



EFEITO DA REFRIGERAÇÃO NA APTIDÃO TECNOLÓGICA PARA FABRICO DE QUEIJO DO LEITE DE CABRA

Ana Sofia Saraiva dos Santos Reigoto

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Agronómica

Orientador: Professor Doutor António Pedro Louro Martins

Júri:

Presidente: Doutor Raul Filipe Xisto Bruno de Sousa, Professor Catedrático do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Doutora Maria Isabel Nunes Januário, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Doutor António Pedro Louro Martins, Professor Auxiliar convidado do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Lisboa, 2009

AGRADECIMENTOS

Muitas foram as pessoas que contribuíram decisivamente para o facto de ter conseguido terminar com sucesso, esta “viagem”.

Quero, deste modo, começar por agradecer à minha mãe, por todo o amor que me deu ao longo da minha vida. Este período, em especial, não foi excepção. Sem ela não teria sido possível ultrapassar algumas fases mais complicadas com as quais, pontualmente, me deparei.

Ao meu namorado, por muito do apoio que me deu, pela ajuda que me prestou quando necessitei e por todo o carinho com que o qual me tratou ao longos destes anos.

Ao meu Orientador, o Professor Doutor António Pedro Louro Martins, pelo conhecimento e paciência que teve para comigo, ao longo da realização da dissertação, e por ter aceite ser meu orientador.

À D. Helena, D. Manuela e à D. Isabel por toda a ajuda e simpatia com que me receberam.

A todos os Professores que durante toda a minha estadia no ISA partilharam os seus conhecimentos comigo.

À Queijaria *Flor de Cardo* pelo fornecimento das amostras de leite necessárias à elaboração deste estudo.

Às minhas colegas e amigas das Equipas de Voleibol, do ISA e do Filipa de Lencastre, que sempre tiveram uma palavra para mim, motivando-me e incentivando para superar os problemas.

Obrigado a todos.

RESUMO

Este trabalho teve como principal objectivo estudar o efeito da refrigeração no leite de cabra, essencialmente no que se refere às características físico-químicas do leite que deste modo condicionam a sua aptidão para a coagulação e o respectivo comportamento no decurso das fases tecnológicas e a qualidade do produto final.

Foram realizados estudos ao nível da composição físico-química, com particular incidência sobre o pH e o teor de matéria útil para o fabrico de queijo, e também à aptidão do leite à coagulação, através de ensaios de coagulação com o Optigraph.

O principal efeito da refrigeração sobre o leite situou-se ao nível do efeito directo da componente microbiana, facilmente avaliado através do pH. Ao fim de dois dias de refrigeração a 6° C, o pH diminui significativamente, sendo necessário adicionar conservante para limitar a acção microbiana de modo a ser possível estender os ensaios de refrigeração a um tempo prolongado (6-7 dias), condição hoje algo frequente a nível do fornecimento de leite às unidades de transformação.

Os resultados obtidos permitem verificar que, uma refrigeração prolongada e em condições inadequadas, pode conduzir a uma alteração das características físico-químicas do leite, com principal incidência sobre a evolução do pH, resultantes da evolução microbiana, conduzindo ao difícil controlo da coagulação, condicionando deste modo todo o processo de fabrico de queijo. Este efeito ultrapassou o efeito específico da refrigeração, o qual não foi significativo. As características do gel, em particular a consistência, foram apenas ligeiramente afectadas nos primeiros 3 dias de refrigeração, recuperando, de algum modo, um pouco as suas características.

Palavras-chave: leite de cabra, refrigeração, aptidão à coagulação

ABSTRACT

This work aimed to study the effect of cooling on some goat milk physical and chemical properties that might influence its coagulation ability and consequently the curd behavior on the other technological phases and also on the cheese quality.

The studies were conducted at the physical and chemical characteristics level, with particular focus on the behavior of pH and also on the protein complex properties. These properties are important for the milk clotting ability and therefore for cheese making, and were evaluated monitoring the milk cooling trials by coagulation assays with the Optigraph.

The main effect of milk cooling stood at the direct effect of the microbial flora, indirectly evaluated by pH measurements. After two days of chilling at 6° C, the pH decreased significantly, being needed the addition of preservatives to limit the microbial action in order to extend the cooling trials for a longer period (6 days). Under these stabilization conditions, the results showed that milk cooling did not significantly affected the milk technological properties. On the contrary, the curd characteristics, in particular the curd firmness, were only slightly affected in the first three cooling days, and then recovered the initial characteristics.

Key words: goat milk, cooling preservation, milk clotting ability.

EXTENDED ABSTRACT

With the increase of the goat milk production, the use of new technological practices, like on farm or in cheese facilities milk cooling preservation, is becoming necessary in the traditional cheese production activity.

The main objective of this work was to study the impact of the cooling in the technological properties of the goat milk. Goat milk of two sources was used, with samples been collected weekly during approximately three months. After the initial characterization (pH, acidity, density and fat, crude protein, casein, total and non-fat solids contents), milk was cooled down to a temperature of 6° C, where it was verified that it was not possible to prolong the cooling trials for more than two days, since the results were more affected by the acidification than by the temperature.

A compensation for the evolution of pH was then tested, which did not reveal itself to be efficient, producing much instability and erratic behaviors in the coagulation assays. The solution that was then proposed was the addition of chemical preservation with sodium azide solution to limit the microbial share in order to be possible to extend the refrigeration assays for a longer period. The initial batches of milk were divided, and then were added the preservation solution. To better understand the evolution of milk throughout the refrigeration, the value of pH was determined in each assay. To assess the milk microbiological quality, the methylene blue test was performed at the beginning of each trial.

Optigraph was used to study the milk clotting ability, analyzing the R, AR, A2R, A₂₀, A₄₀ and OK20 parameters by using two rennet solutions, a standard one, to make possible comparisons with previous results obtained by other authors, and liquid rennet.

Despite the use of the preservation solution, the pH suffered a significant effect of the cooling time, not being enough to affect the R parameter, the time for beginning micellar aggregation. In a similar way, the differences in the milk clot firmness as a function of the cooling time were not significant, being noticed only one tendency to an alteration of the various parameters that was followed by an increasing evolution of the average, recovering and even exceeding the initial values.

The initial average composition of the milk of the two producers was significantly different, mainly for protein content, thus explaining the different behavior in the coagulation, mainly in the curd firmness.

In conclusion, the goat milk cooling for a long period can lead to a decrease of its cheese making properties, mainly for microbial influence on milk pH. The curd properties, in particular the curd firmness, is only slightly affected in the first cooling days, and then recovered the initial characteristics, this being in opposition of a what is pointed in general for milk long period cooling preservation, for a longer cooling period.

Key words: goat milk, cooling preservation, milk clotting ability.

INDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	II
RESUMO	III
ABSTRACT	IV
EXTENDED ABSTRACT	V
INDICE GERAL.....	VI
INDICE DE QUADROS	IX
INDICE DE FIGURAS	X
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJECTIVOS DO ESTUDO.....	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. O Leite de Cabra – características gerais	4
3.2. Aptidão Tecnológica do Leite - Coagulação	9
3.2.1. Factores tecnológicos que afectam a actividade enzimática e a coagulação .	10
3.2.1.1. Natureza e concentração das enzimas.....	10
3.2.1.2. Temperatura.....	10
3.2.1.3. pH.....	11
3.2.1.4. Adição de cloreto de cálcio.....	12
3.2.1.5. Adição de cloreto de sódio	13
3.2.1.6. Tipo de leite.....	14
3.3. Tecnologia de Fabrico.....	16
3.4. Refrigeração	18
3.4.1. Efeitos ao Nível da Componente Físico-Química	20
3.4.2. Efeitos ao Nível da Componente Microbiana	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
4.1. Recolha e Preparação das amostras	24
4.2. Análises Físico-Químicas	25
4.3. Aptidão tecnológica	26

4.4.	Análise Estatística dos Resultados	28
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1.	Composição inicial do leite	29
5.2.	Conservação do leite durante a refrigeração	29
5.3.	Aptidão à Coagulação inicial do leite	32
5.4.	Efeito da Refrigeração na Aptidão Tecnológica do Leite	32
6.	CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO.....	39
7.	BIBLIOGRAFIA.....	41
7.1.	Cibergrafia	47
ANEXOS.....		48

INDICE DE QUADROS

Quadro I - Produção Mundial de Leite no ano de 2007	4
Quadro II - Produção Nacional de Leite no ano de 2007	4
Quadro III - Composição físico-química média de diferentes leites (%)	6
Quadro IV – Comparação entre a composição média dos leites utilizados provenientes de dois produtores B e V.	29
Quadro V – Evolução do pH com a conservação a 6º C.	30
Quadro VI - Tempo de redução do azul-de-metileno para o leite dos diferentes ensaios.	31
Quadro VII – Aptidão tecnológica do leite utilizado nos ensaios, em função do Produtor. ...	32
Quadro VIII - Resumo da análise estatística para os factores Produtor e Tempo de Conservação (coalho Granday).....	33
Quadro IX – Parâmetros de aptidão tecnológica do leite em função do tempo de conservação (global).	33
Quadro X – Parâmetros de aptidão tecnológica do leite em função do tempo de conservação – Produtor B.	35
Quadro XI – Parâmetros de aptidão tecnológica do leite em função do tempo de conservação – Produtor V.	36
Quadro XII - Resumo da análise estatística para os factores Produtor e Tempo de Conservação (coagulante padrão).....	37

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Influência da temperatura sobre a velocidade de consolidação (VR) do coágulo (Brule e Lenoir, 1997).....	11
Figura 2 – Influência do pH sobre a velocidade de consolidação e sobre a firmeza máxima do coágulo coalho (Brule e Lenoir, 1997).	12
Figura 3 - Relação entre o tempo de coagulação e a relação Ca/N durante a lactação	13
Figura 4 - Evolução da firmeza do gel obtido a partir de leite de ovelha, de cabra e de vaca	14
Figura 5 - Influência da concentração de caseínas sobre o tempo de coagulação	15
Figura 6 – Influência da concentração de caseínas sobre a firmeza do gel	15
Figura 7 - Evolução da flora microbiana consoante a temperatura de refrigeração e o período de tempo (Alais, 1985)	22
Figura 8 - Esquema da representação gráfica tipo do <i>Optigraph</i> [®] e indicação dos respectivos parâmetros que são medidos pelo equipamento	26
Figura 9 - Evolução do pH com a conservação.....	30
Figura 10 – Evolução média da firmeza do gel ao longo do tempo.	34
Figura 11 - Evolução do tempo de início de coagulação, em função do produtor.....	37
Figura 12 - Evolução da firmeza do gel para o produtor B e para o produtor V, ao longo do tempo	37

1. INTRODUÇÃO

Para o produtor de queijo, é de extrema importância a existência de uma boa coalhada para o fabrico de queijo de qualidade, um produto com grande aceitação quer em termos de *flavour* quer em termos de textura. Deste modo, a estrutura da coalhada é determinante nas propriedades do produto final e, por conseguinte, a retenção de proteína, gordura e humidade, da qual o rendimento em queijo e sua composição dependem. Pelo fenómeno físico-químico da coagulação, a formação do coágulo está estreitamente ligada às condições de coagulação, tais como a natureza e volume de coagulante, a temperatura e o pH, e ainda aos factores de coagulação que derivam da própria composição do leite.

Os dois principais factores endógenos do leite que determinam o tempo de coagulação e as próprias características reológicas são a concentração em caseínas e a concentração em cálcio e fosfato de cálcio coloidal. Interessa então conhecer a influência das variações normais destes factores na coagulação enzimática no leite, nomeadamente na cinética da agregação micelar e na consistência final do gel.

A utilização de novas práticas tecnológicas no fabrico tradicional de queijo, tal como a refrigeração, tornou possível um aumento dos níveis de produção de queijo, apesar de nem sempre ser acompanhado de níveis de qualidade desejados. Para minimizar essas consequências é necessário estudar qual o efeito da refrigeração na qualidade do leite utilizado para o fabrico de queijo, recorrendo a meios adequados, proporcionando resultados de índole tecnológica que permitam eventuais correcções a nível de processos ou a nível da matéria-prima.

Têm ocorrido diversos progressos no estudo da importância destes factores que influenciam a coagulação, principalmente na evolução dos métodos de análise do seu processo global.

Um equipamento de apoio a esse estudo surgiu nos últimos anos, o Optigraph®, baseado num método óptico de análise da formação do coágulo, por amostragem de pequenas quantidades de leite. Este aparelho veio permitir contornar alguns inconvenientes derivados de outros métodos instrumentais, tais como, a impossibilidade de utilização *in situ* ou a destruição das amostras.

O recurso a este aparelho teve como objectivo analisar a aptidão tecnológica do leite para posterior utilização no fabrico de queijo, através do tempo de coagulação e das características do gel formado.

Este trabalho foi realizado no núcleo de tecnologia do leite e derivados da Unidade de Investigação de Tecnologia Alimentar, do L-INIA, Instituto Nacional de Recursos Biológicos, situado no Instituto Superior de Agronomia, e pretende dar prosseguimento a outros estudos já realizados no que diz respeito à investigação sobre a fase de coagulação enzimática do leite no fabrico de queijo, mais propriamente a partir de leite de cabra.

Foi utilizado leite de cabra, de duas proveniências, um dos tipos de leite que, em Portugal, são utilizados exclusivamente no fabrico de queijo, e que é, em simultâneo, um dos menos estudados, quer em termos de composição, quer em termos das transformações que se processam na principal fase da tecnologia de fabrico de queijo, a coagulação.

2. OBJECTIVOS DO ESTUDO

Como se referiu nos capítulos anteriores, os leites de pequenos ruminantes são (quase) exclusivamente utilizados no fabrico de queijo mas, apesar disso, os estudos sobre o impacto de factores de produção animal e até de factores tecnológicos são escassos, resumindo-se a maior parte das vezes ao efeito na composição do leite, o que se pode considerar redutor face ao fabrico de queijo, pois, como se sabe, o modo e o estado em que esses componentes se encontram no leite são, por vezes, os mais decisivos.

O efeito de muitos desses factores tem sido estudado a nível do leite de vaca, e a refrigeração tem sido um dos aspectos contemplados mas, dadas as diferenças que se verificam entre este tipo de leite e os leites de pequenos ruminantes, quer quantitativas quer qualitativas, deve existir alguma precaução na transposição dos conhecimentos obtidos para as situações que não foram contempladas nos estudos.

Por outro lado, a evolução, nos últimos anos, do sector da queijaria tradicional portuguesa, como se sabe assente sobretudo na utilização de leite de pequenos ruminantes, vem acentuando a utilização de práticas tecnológicas e de processamento pouco características dessa actividade e muito mais associadas à indústria, baseada sobretudo na utilização de leite de vaca. Entre essas práticas, a generalização da refrigeração tem sido um facto, dadas as vantagens que lhe estão associadas, mas, não sendo bem utilizada, pode tornar-se mais um factor de instabilidade para o fabrico e qualidade do produto final.

Há algum tempo que o departamento do L-INIA/INRB onde este trabalho decorreu vem estudando estas problemáticas relativamente aos leites de pequenos ruminantes e a sua relação com o fabrico de queijo e, recentemente, foi contemplado o estudo do efeito da refrigeração no leite de ovelha (Ramos, 2009). Surgiu agora a oportunidade de estender o tema ao leite de cabra, sobretudo no que se refere ao efeito na componente físico-química.

Assim, no presente trabalho foi estudado o impacto da refrigeração nas características tecnológicas do leite de cabra, através do efeito nas características físico-químicas do leite que deste modo condicionam a sua aptidão para a coagulação e, consequentemente, o respectivo comportamento no decurso das fases tecnológicas e a qualidade do produto final.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. O Leite de Cabra – características gerais

O Homem, após a domesticação dos animais, começou a perceber que o leite obtido das fêmeas dos animais poderia constituir um recurso muito importante quer ao nível da qualidade, quer também devido à facilidade de aquisição, atribuindo deste modo, propriedades sagradas (Rebelo, 1983).

Não se conhece ao certo a primeira utilização da cabra no fabrico de queijo, mas é mencionado em diversa literatura a utilização destes animais para a produção de leite em todo o mundo: a vaca, a búfala, a camela, a égua, a burra, a cabra, a ovelha.

Quadro I - Produção Mundial de Leite no ano de 2007

Produto	Toneladas
Búfalo	85 396 902
Cabra	14 800 534
Camelo	1 475 861
Ovelha	9 146 535
Vaca	560 487 275
Total	671 307 107

Fonte: FAO, 2009

No que diz respeito ao nosso País, as fêmeas utilizadas para a produção leiteira são a vaca, a cabra e a ovelha e o sector leiteiro apresenta várias características e particularidades próprias. Devido ao facto de ser um país mediterrânico, é de esperar que em Portugal o consumo de leite e dos seus derivados esteja enraizado culturalmente na população, fazendo deste modo parte integrante dos hábitos alimentares (Correia, 2009).

Quadro II - Produção Nacional de Leite no ano de 2007

Produto	Toneladas
Cabra	28 450
Ovelha	96 154
Vaca	1 924 660
Total	2 049 264

Fonte: FAO, 2009

Comparativamente, num ano, a vaca é capaz de fornecer mais de 5 vezes o seu peso em leite, a cabra mais de 12 vezes e a ovelha 3 a 4 vezes (Rebelo, 1983).

O leite é uma parte fundamental da alimentação. A principal função é a de fornecer aos animais mais jovens, a protecção nutricional e imunológica de que necessitam.

De acordo com o Regulamento CE nº 1234/2007, pode ser definido como o “produto da secreção mamária normal, proveniente de uma ou mais ordenhas, sem qualquer adição ou extracção”. É caracterizado por uma cor branco-mate, um sabor adocicado, agradável e característico, por um aspecto limpo e sem grumos, de composição complexa e reacção iónica (pH) próxima da neutralidade (Alais, 1985; Luquet, 1985).

Designa-se por leite cru, o leite produzido pela secreção da glândula mamária de animais de criação, e não aquecido a uma temperatura superior a 40 °C nem submetido a um tratamento de efeito equivalente (Regulamento CE nº 853/2004).

De acordo com os interesses do consumidor e da indústria, é possível considerar como leite alimentar o leite cru que é destinado ao consumo humano, de forma directa ou indirecta, produzido por animais saudáveis, bem alimentados, não fatigados, mantidos em bom estado de higiene, e que satisfaça os seguintes requisitos:

- Ser produto integral da ordenha completa e ininterrupta;
- Não conter colostro;
- Isento de coloração, cheiro e sabores anormais;
- Ser colhido, conservado e transportado de acordo com os regulamentos;
- Não conter microrganismos patogénicos, pus, sangue, nem substâncias estranhas á sua composição química original.

O leite de cabra é um dos alimentos mais completos e a sua importância é baseada nos factores que lhe conferem um alto valor nutritivo, tais como, elevado valor de proteínas, vitaminas, gordura, sais minerais e alta digestibilidade, sendo bastante recomendado para pessoas convalescentes, idosas e crianças, especialmente quando alérgicas ao leite de bovino. Tal como o leite das outras espécies, a sua composição está dependente de vários factores, tais como, a componente genética do animal (raça e o indivíduo), a alimentação, o clima, o estado sanitário e fisiológico, a ordenha e as condições de manipulação (Sanchez, 2004).

Há ainda a realçar o facto de que, a nível tecnológico, a junção de leite de cabra com leites de outras espécies no fabrico de queijo, melhora as características organolépticas das massas queijeiras à base de leite de vaca e de ovelha, podendo assim constituir uma fonte de rendimento (Martins, 1979).

De uma maneira geral, o leite tem dois fins distintos: alimentação sob a forma líquida e matéria-prima industrial, estando neste último caso na base da produção de vários produtos lácteos, envolvendo operações de transformação através da desidratação, até à elaboração de produtos obtidos através de profundas alterações nos seus constituintes, principalmente proteína, gordura e lactose, como ocorre no fabrico de queijo. Estes produtos resultam de duas acções combinadas, uma mecânica manipulada objectivamente pelo homem, e outra que provém da primeira e que resulta de um processo bioquímico complexo que envolve como principais agentes a flora microbiana presente e as suas enzimas, assim como as enzimas existentes no leite e as enzimas do coagulante utilizado, e como catalisadores os sais presentes, as vitaminas e outros biocatalisadores (Vieira de Sá e Barbosa, 1990).

Os principais constituintes do leite, existentes em maior quantidade, são a água, as proteínas, a lactose, a gordura e os sais minerais, existindo ainda mas em pequenos vestígios, vitaminas, enzimas, outros lípidos, pigmentos, hormonas e gases (Martins, 1979; Vieira de Sá e Barbosa, 1990).

A composição varia não só de uma espécie animal para outra (Quadro III) como também dentro da própria espécie, com as diferentes raças, com a fisiologia do animal, com o tempo de lactação, com a idade, com a estação do ano e com a alimentação, com a quantidade de leite produzido e ainda com o regime de exploração do animal (Rebelo, 1983).

Quadro III - Composição físico-química média de diferentes leites (%)

Leite	Resíduo Seco Total	Proteína	Caseína	Matéria Gorda	Lactose
Vaca	13,0	3,2	2,8	3,9	4,9
Ovelha	18,4	5,5	4,5	7,19	4,7
Cabra	13,0	2,8	2,3	3,38	4,4 – 4,7

Fonte: Mahaut *et al.*, 2000

É possível descrever resumidamente as principais diferenças entre o leite de cabra e o leite de vaca:

- O leite de cabra apresenta um teor em matéria gorda inferior ao leite de vaca. Os seus glóbulos de gordura têm menores dimensões, cerca de 65% destes apresentam um diâmetro inferior a 3 μm , contra 43% no leite de vaca, o que apresenta um interesse nutricional evidente, na medida em que ao se encontrarem mais dispersos no leite e apresentarem uma maior superfície específica para a actuação enzimática, são facilmente digeridos e assimilados;
- Ao contrário do leite de vaca, o leite de cabra não apresenta aglutinina, que é a enzima responsável pelo agrupamento dos glóbulos de gordura, o que explica a dificuldade do desnate espontâneo, juntamente com as diferenças a nível da dispersão da matéria gorda;
- No que diz respeito à fracção proteica, apesar de esta ser quantitativamente semelhante, o teor de caseína α_{s1} é um pouco inferior no leite de cabra, podendo até ser muito baixo. São estas diferenças nos teores de caseína que vão originar, juntamente com a adição do coalho, diferenças significativas nas características físicas das coalhadas;
- A composição mineral é similar, apresentando o leite de cabra teores mais elevados de potássio, cloro, magnésio, cálcio e fósforo.

No que diz respeito à componente microbiana, esta pode transformar um leite num produto perigoso para a saúde, devido ao facto de a sua composição fazer dele um óptimo meio para a reprodução, conservação e transmissão de uma gama muito variada de microrganismos e toxinas.

A flora microbiana é constituída por flora desejável que compreende microrganismos inofensivos para a saúde e que pode impedir a actividade de outros microrganismos e originar fermentações produtoras de gostos e aromas desejáveis quer no leite, quer nos produtos derivados, e por flora indesejável que se alimenta à custa de matérias orgânicas existentes no próprio leite e compreende os microrganismos que produzem fermentações que tornam o leite e os seus derivados impróprios para o consumo.

O leite e a maior parte dos produtos lácteos podem conter microrganismos patogénicos para o homem. Estes microrganismos podem ter várias origens, tais como o próprio animal, o meio exterior e o homem.

Apesar de menos contaminado que os instrumentos utilizados na ordenha, o exterior da glândula mamária pode trazer germes de contaminação e esporos, casos de fezes aderentes à mama, sendo deste modo necessária a eliminação dos primeiros jactos de leite. A ausência de cuidados especiais, quando da preparação da mama, poderá provocar a contaminação microbiana do leite pela pele. A grande maioria dos microrganismos abrangidos corresponde quase sempre a uma flora de transição, sem consequência para as transformações ou a aptidão do leite para a conservação a baixa temperatura. Todavia, esta contaminação do produto é a principal, e praticamente a única, fonte de esporos aeróbicos (*Bacillus*) e anaeróbicos (*Clostridium*). É aconselhável uma preparação cuidadosa das mamas antes da ordenha. Na maioria dos casos, em úberes saudáveis, as contaminações mamárias não originam aumento notável da flora microbiana do leite. Em conclusão, o úbere é uma fonte de contaminação a não subestimar. É preciso portanto utilizar material limpo e desinfectado e depois executar uma lavagem correcta (Luquet, 1985).

Se, previamente, o úbere foi bem lavado, a principal fonte de contaminação microbiana do leite encontra-se ao nível da instalação de ordenha, principalmente nos casos de insuficiente lavagem ou desinfecção. A contaminação microbiana do leite pelo material de ordenha depende da concepção e do estado do material de ordenha e da qualidade da limpeza.

As condições de alojamento e as práticas de manejo do gado devem manter os animais num estado saudável. Uma cama renovável (de palha) deverá ser substituída com regularidade e as camas fixas lavadas sempre que necessário. A lavagem da mama é indispensável mas deve fazer-se completamente e ser seguida de uma secagem. A utilização de vasos para a recolha dos jactos iniciais permite a eliminação dos primeiros mililitros de leite que podem estar contaminados pelo canal do teto e pelo seu orifício. As máquinas de ordenhar originam um refluxo de leite que inunda o teto, o que aumenta a contaminação do leite.

As águas e o solo são reservatórios de microrganismos patogénicos. Com poeira e as gotas de água, estes microrganismos, entre outros, podem chegar ao leite no momento da recolha e também das manipulações e tratamentos a que se submete. Este tipo de contaminação não é específico do leite, podendo ocorrer em todas as substâncias alimentares (Alais, 1985).

O homem é uma causa directa de contaminação que não deve ser desprezada. Pode ocorrer através das mãos, das roupas sujas, dos sapatos, e de muitas outras maneiras.

3.2. Aptidão Tecnológica do Leite - Coagulação

A coagulação é um dos dois fenómenos mais relevantes no processo de fabrico de queijo. Trata-se de um fenómeno segundo o qual a caseína se separa dos restantes constituintes do leite, originando um corpo sólido chamado, numa fase inicial, coalhada e, posteriormente, queijo, e ainda um líquido que se chama soro, contendo este, ainda em suspensão e solução, substâncias sólidas. Resulta, assim, das modificações físico-químicas que intervêm ao nível das micelas de caseína, segundo mecanismos que diferem totalmente, conforme estas modificações sejam induzidas por acção de um ácido ou pela acção das enzimas coagulantes (Brule e Lenoir, 1987).

Na coagulação por acidificação, verifica-se a adição de um ácido mineral ou orgânico que origina a floculação das caseínas a um pH de 4,6 sob a forma de um precipitado mais ou menos granuloso, que se separa do soro. No caso de ser uma acidificação progressiva, através da acção microbiana, leva à formação de um coágulo homogéneo que ocupará a totalidade do volume inicial do leite.

Na formação do coágulo estão presentes ligações intermoleculares de natureza electrostática e hidrofóbica o que origina uma grande fragilidade do coágulo láctico, plasticidade e elasticidade praticamente nula.

Durante o processo de acidificação ocorre uma desorganização da micela de caseína que é acompanhada da modificação da sua estrutura quaternária, e, devido à aproximação do pH do ponto isoeléctrico verifica-se a neutralização das cargas negativas da micela e do potencial de superfície, a diminuição do poder sequestrante das caseínas α e β e um aumento progressivo da solubilidade dos iões cálcio e fosfato de cálcio da micela para a fase aquosa (Sanchez, 2004).

Na coagulação enzimática, ocorrem fundamentalmente duas fases, a fase primária ou enzimática, em que se desestabiliza a micela de caseína, e a fase secundária ou de coagulação, onde se dá a formação do gel devido à agregação das micelas modificadas por acção da enzima. Estas modificações físico-químicas que ocorrem ao nível das micelas são promovidas por acção de enzimas proteolíticas que levam à formação de uma rede proteica chamada de coágulo ou gel.

3.2.1. Factores tecnológicos que afectam a actividade enzimática e a coagulação

3.2.1.1. Natureza e concentração das enzimas

Segelcke e Storch estabeleceram, através da equação denominada de “relação de Segelcke e Storch”, a relação linear entre o tempo de coagulação e o inverso da concentração enzimática. Esta equação estabelece que o produto entre a concentração em enzima e o tempo de coagulação é constante, o que implica uma proporcionalidade entre a quantidade de enzima e a velocidade das reacções que provoca, nomeadamente o tempo de coagulação, mais correctamente, o tempo de início da agregação micelar ou floculação.

Tanto as características reológicas do gel como a velocidade de coagulação variam consoante as enzimas, as quais influenciam ainda a velocidade de endurecimento, a plasticidade, a firmeza máxima e a elasticidade.

A concentração em enzima influencia a velocidade de reacção enzimática, condicionando ainda a velocidade de agregação das micelas e, por consequência, a evolução da consistência do gel. Com o aumento da concentração enzimática, o tempo necessário para se atingir a consistência máxima do gel é fortemente diminuído mas, para concentrações de enzimas normalmente utilizadas no fabrico de queijo, a consistência máxima não é afectada.

3.2.1.2. Temperatura

A coagulação é fortemente dependente da temperatura. Abaixo dos 10°C, não ocorre coagulação do leite, enquanto entre os 10 °C e os 20 °C, a velocidade de coagulação é lenta. Acima dos 20 °C, a velocidade de coagulação aumenta progressivamente até aos 40 – 42 °C, diminuindo de seguida, deixando de ocorrer novamente coagulação para temperaturas superiores a 65°C, visto que a enzima, na maior parte dos casos, é inactivada. O óptimo para a actividade enzimática ocorre longe da temperatura utilizada no fabrico da grande maioria dos queijos, em geral de 28 a 36 °C.

A influência da temperatura resulta da conjugação de dois factores, um sobre a reacção enzimática (fase primária) e outro sobre a fase de coagulação (fase secundária), sendo este último mais importante do que o primeiro.

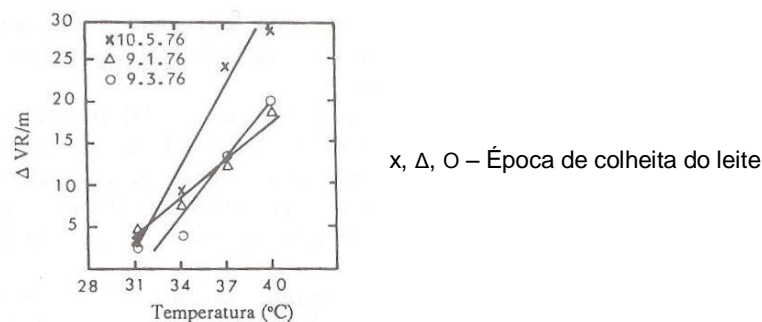


Figura 1 – Influência da temperatura sobre a velocidade de consolidação (VR) do coágulo (Brule e Lenoir, 1997).

A temperatura influencia a velocidade de consolidação do gel (Figura 1), a velocidade de agregação das micelas e a actividade proteolítica. Neste último caso, à medida que a temperatura se aproxima do óptimo de actuação da enzima e o tempo de coagulação é mínimo, ocorre uma intensificação da actividade proteolítica, correspondendo assim à temperatura óptima de actividade enzimática. Uma boa medida da influência da temperatura é a determinação do tempo de coagulação pelo inicio da floculação embora, para temperaturas sucessivamente mais elevadas, ocorra um efeito crescente sobre a agregação das micelas ou mesmo um efeito adicional devido á desidratação do substrato.

3.2.1.3. pH

É possível verificar que a influência do pH sobre o tempo de coagulação e firmeza do gel é muito acentuada (Figura 2). O tempo de coagulação diminui e o gel fica mais firme quando o pH se encontra abaixo dos valores normais do pH do leite. Se o pH for elevado (superior a 7), a coagulação deixa de ocorrer pois a enzima é rapidamente inactivada.

O aumento da velocidade de coagulação devido à diminuição do pH é acompanhado por um aumento significativo da velocidade de consolidação do gel e pela firmeza máxima, excepto para valores de pH inferiores a 6,0, valores a partir dos quais se fazem sentir os efeitos da desmineralização e da desagregação das micelas.

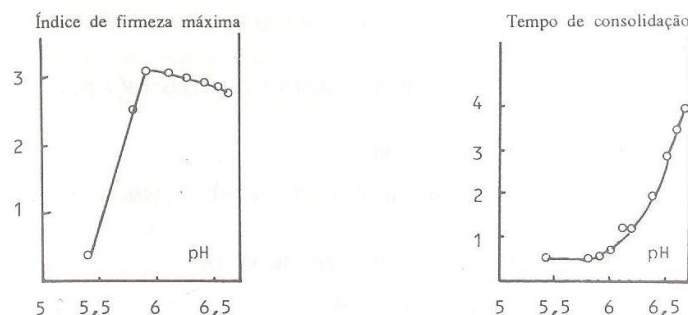


Figura 2 – Influência do pH sobre a velocidade de consolidação e sobre a firmeza máxima do coágulo coalho (Brule e Lenoir, 1997).

A influência da acidificação sobre o tempo de coagulação resulta, por um lado, de um efeito sobre a actividade da enzima; o valor óptimo de pH de acção sobre a caseína κ é de 5,5, apresentando um valor máximo de estabilidade no intervalo de pH 5-6. A acidificação favorece ainda a reacção secundária devido à diminuição da estabilidade das micelas, ligadas à neutralização das cargas e libertação dos iões de cálcio a partir de complexos dissolvidos e coloidais. A fase de coagulação é muito mais sensível ao abaixamento de pH do que a fase enzimática.

3.2.1.4. Adição de cloreto de cálcio

A falta ou ausência de sais solúveis de cálcio no leite devido a deficiências alimentares do animal ou ao tratamento térmico a elevada temperatura tem como consequência uma coagulação lenta e difícil, com coalhadas muito pouco firmes. Alguns leites, apesar de provenientes de animais sãos, são naturalmente pobres em cálcio (Alais, 1985). A adição de cloreto de cálcio tem como principal finalidade reduzir o tempo de floculação e aumentar a rigidez do gel, corrigindo deste modo deficiências dos leites em cálcio ou ainda os leites com diferentes variantes genéticas de caseínas (Martins, 1999). O tempo de coagulação é inversamente proporcional à relação Ca/N do leite, que em leites normais é cerca de 0,23 (Figura 3).

Com a adição de cálcio, verifica-se um aumento do teor de cálcio e de fosfato coloidal, um abaixamento de pH e consequentemente uma diminuição da estabilidade das micelas, favorecendo assim a actuação das enzimas do agente coagulante: ocorre uma diminuição do tempo de coagulação, um aumento da firmeza do gel formado e da velocidade de agregação micelar (Eck, 1997).

O cloreto de cálcio favorece, quando adicionado em doses correctas, a coagulação mas não pode ser considerado como um substituto da acção da enzima coagulante (Alais, 1985). No entanto, a adição em excesso de cloreto de cálcio poderá provocar uma coagulação antecipada, obtendo-se uma coalhada pobre e de má qualidade.

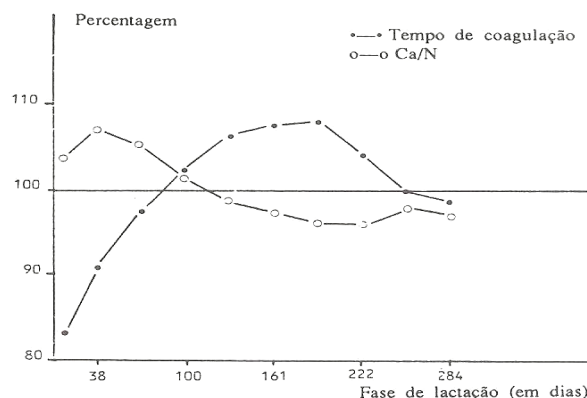


Figura 3 - Relação entre o tempo de coagulação e a relação Ca/N durante a lactação (Lenoir *et al.*, 1997).

3.2.1.5. Adição de cloreto de sódio

A principal finalidade da presença de sal no queijo é o de lhe dar paladar e, por vezes, impedir o desenvolvimento de microrganismos proteolíticos e alguns butíricos. Mas, quando adicionado em quantidades excessivas, é possível verificar que alguns microrganismos são imunes e muitas bactérias lácticas necessárias ao desenvolvimento da cura normal do queijo são afectadas.

A adição de cloreto de sódio é considerada uma prática pouco usada no fabrico de queijo, sendo apenas utilizada na tecnologia de fabrico de alguns queijos tradicionais portugueses.

A adição excessiva de sal ao leite provoca, em geral, um aumento da força iónica com consequências a nível da actividade enzimática, podendo ter ainda efeito a nível da firmeza da coalhada por substituição do cálcio pelo sódio na agregação micelar, dando origem à desagregação das micelas, o que vai dificultar a agregação das partículas de caseína e, deste modo, a coagulação e posteriormente a sinérese.

3.2.1.6. Tipo de leite

Um dos factores com maior influência no processo de coagulação é o tipo de leite que é utilizado no fabrico de queijo, condicionando assim a coalhada obtida e consequentemente o produto final que é obtido.

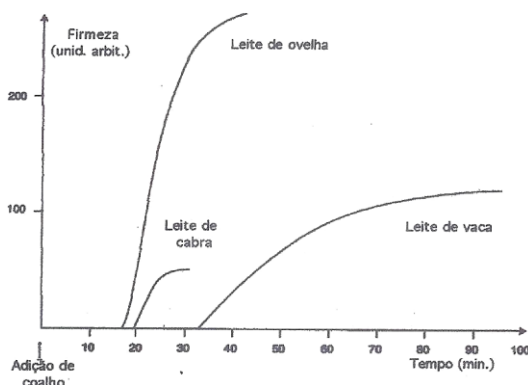


Figura 4 - Evolução da firmeza do gel obtido a partir de leite de ovelha, de cabra e de vaca (Lenoir *et al.*, 1997).

Como apresentam composição e características físico-químicas diferentes, o leite de cabra e de ovelha têm comportamentos particulares, quando é adicionado o coalho. Pela actuação de uma mesma enzima coagulante em diferentes tipos de leite, é possível verificar diferenças relativamente à afinidade para a degradação da caseína k e posteriormente à capacidade ou velocidade de agregação micelar, para além da acção proteolítica posterior sobre as diferentes caseínas do leite em fases mais avançadas do fabrico do queijo.

Através da Figura 4, é possível observar essas diferenças. Dos três tipos de leite, o leite de cabra apresenta tempos de coagulação menores, velocidade elevada de aumento da consistência do gel mas uma firmeza máxima do gel fraca, apesar de conter teores em caseína baixos e teores elevados em cálcio iónico. No caso do leite de ovelha, este é rico em caseína e cálcio micelar, e apresenta um início de floculação semelhante ao leite de cabra, uma velocidade de agregação micelar muito elevada e uma firmeza máxima do gel muito elevada.

As diferentes características físico-químicas e o diferente comportamento tecnológico dos vários tipos de leite são devidos ao polimorfismo genético verificado ao nível das caseínas k , β , α_{s1} e β -lactoglobulina de vaca e da caseína α_{s1} de cabra e de ovelha, fazendo-se notar principalmente ao nível da concentração em caseínas (Figuras 5 e 6) e em cálcio bem como na dimensão das micelas.

Vários autores consideram existir uma forte e positiva correlação entre o teor em matéria proteica e a aptidão à coagulação pelo coalho e as boas características do gel.

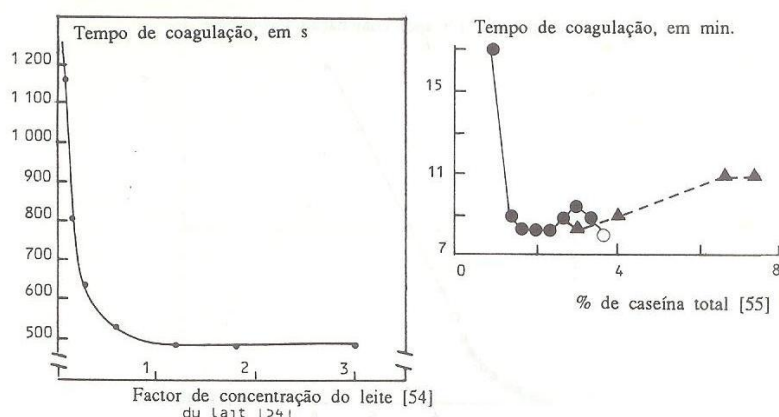


Figura 5 - Influência da concentração de caseínas sobre o tempo de coagulação
(Lenoir *et al.*, 1997)

De acordo com a Figura 5, é possível observar que o aumento da concentração de caseínas se traduz por um aumento muito nítido da firmeza do coágulo, enquanto o tempo de coagulação é pouco afectado, ou prolongado. No plano reológico, foi observado que o enriquecimento do leite em proteínas acelera a velocidade de endurecimento do gel, aumentando a firmeza máxima. Por exemplo, um aumento da taxa de caseína no leite de 10% conduz a um aumento da firmeza máxima do gel em cerca de 15% e, abaixo de um limite de concentração próximo de 0,7%, o gel não se forma; mas acima de 2,5% a relação entre a concentração e a força do gel é linear (Figura 6).

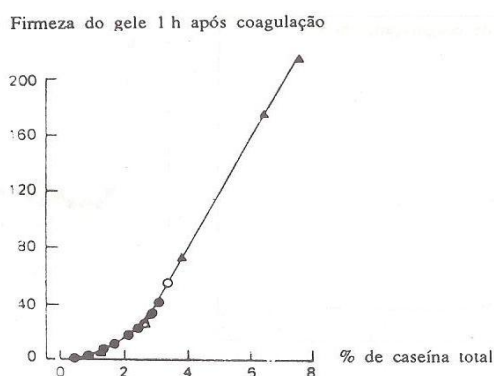


Figura 6 – Influência da concentração de caseínas sobre a firmeza do gel
(Lenoir *et al.*, 1997).

O leite de vaca, ao contrário do leite de cabra e de ovelha, é mais susceptível à variação dos factores que influenciam a coagulação, o que nos leva a concluir que, alterações nestes factores podem melhorar a aptidão tecnológica do leite de vaca, sendo menor a influência no caso do leite de ovelha e de cabra. Isto é, ao manipular os factores que afectam a aptidão tecnológica do leite, podemos obter um gel de consistência final superior.

3.3. Tecnologia de Fabrico

O queijo, segundo Rebelo (1983), é o produto alimentar resultante da transformação do leite, numa massa semi-sólida que, convenientemente trabalhada, pode ser consumida em fresco, depois de curada ou no estado de fundida.

É um dos vários produtos derivado do leite cuja história é já muito antiga e comum a várias culturas. Sendo um bom meio de conservar o leite por longos períodos e um produto organolepticamente apetecível, mantém o seu sucesso até aos dias de hoje. Muitas vezes é um produto característico de certas regiões que se encontra intimamente associado à cultura da zona, pelo que, ainda que mantendo uma estrutura base, o seu processo de fabrico pode variar com o tipo de queijo que se pretende obter. Ao leite, inteiro ou parcialmente desnatado, por vezes pasteurizado e mantido à temperatura conveniente, é adicionado o coalho, de origem animal, vegetal ou de síntese bacteriana, e/ou uma cultura bacteriana. Por acção das enzimas presentes no coalho ou do desenvolvimento microbiano, dá-se a coagulação das proteínas do leite, principalmente a caseína, formando-se uma massa de sólida, a coalhada. A coalhada é separada do soro e mais ou menos trabalhada, sendo depois colocada em formas ou cinchos. Os queijos permanecem em condições adequadas de humidade e temperatura, durante tempo variável, em função do tipo de cura pretendido.

Em todos os casos, quanto mais limpo e recente for o leite, melhor será o queijo. Um leite sujo, ácido ou alcalino, com gostos mais ou menos desagradáveis, com antibióticos, etc., origina defeitos que podem prejudicar a qualidade do produto final. A acidez tecnologicamente controlada e resultante da acção de fermentos lácticos preparados com bactérias específicas, ou da flora láctica dos leites produzidos nas melhores condições higiénicas, é completamente diferente da acidez desenvolvida descontroladamente a partir de uma flora heterogénea e de má qualidade, como é a que resulta de leites produzidos em más condições higiénicas.

O queijo de cabra é normalmente produzido em pequenas queijarias artesanais. A sua produção é sazonal, sendo iniciada no mês de Dezembro, época em que se iniciam as ordenhas, após a venda dos cabritos do Natal, e prolonga-se normalmente até aos meses de Junho/Julho, embora existam já situações em que a produção industrial se estende por todo o ano, o que corresponde a uma mudança gradual a nível dos sistemas de produção e de transformação.

A tecnologia de fabrico do queijo é artesanal, sendo baseada nos conhecimentos transmitidos ao longo de gerações, à qual foi associada a técnica pessoal, caracterizando a forma própria de fabrico.

O processo de fabrico pode ser descrito resumidamente em quatro etapas:

- **Coagulação** – é um fenómeno pelo qual a caseína se separa dos restantes constituintes do leite, dando origem, por um lado, a um corpo sólido que se denomina numa primeira parte de coalhada e posteriormente de queijo, por outro lado, a um líquido a que se chama soro, contendo este ainda em suspensão e solução algumas substâncias sólidas. Essas modificações físico-químicas podem ser induzidas por acidificação (coagulação por acidificação) e/ou pela acção de enzimas proteolíticas (coagulação enzimática). As propriedades reológicas do gel dependem dos valores de pH, da temperatura, da velocidade de acidificação, ou seja, das características originais do leite e das condições de coagulação;
- **Dessoramento** – consiste na separação do soro da coalhada, após a ruptura mecânica do gel, obtendo-se um produto moldável mas que mantém a forma pretendida, e que apresenta condições mínimas de conservação, permitindo deste modo uma evolução controlada e controlável durante a maturação. Tanto as características qualitativas como a quantidade de soro libertado, estão dependentes das características do gel e variam consoante o tipo de queijo que se pretende obter;
- **Salga** – pode ser realizada através da incorporação do sal na coalhada, à superfície do queijo ou por imersão em salmoura. O principal objectivo do sal é o de conferir ao queijo um sabor característico, podendo também disfarçar ou realçar o sabor de outras substâncias presentes. Favorece ainda a libertação do soro e exerce um importante papel na selecção da flora microbiana presente no queijo e também na evolução do processo de maturação, condicionando os processos proteolíticos. A

absorção do sal é efectuada por difusão podendo ser influenciada por vários factores, tais como, a concentração, o pH e a temperatura da salmoura, o teor de humidade do queijo e a relação entre a superfície/volume do mesmo;

- **Cura** – trata-se da última etapa do processo de fabrico de queijo. Ocorrem aqui várias reacções bioquímicas complexas que são promovidas por acção microbiana, modificando os diversos componentes da coalhada, tendo como produto final um produto com características distintas do queijo em fresco, tais como aspecto, sabor e textura.

As características do produto final obtido são influenciadas tanto pelas características originais do leite, como pelas condições em que decorrem cada uma das etapas de todo o processo de fabrico.

A fase da coagulação, seguida da cura, é a etapa que maior influência tem sobre as características do produto final. A textura, o sabor e o aroma do queijo estão directamente relacionados com a composição (teor de humidade, de matéria gorda, de proteína, de minerais) e com o pH da coalhada, e também com as condições em que a cura decorreu.

3.4. Refrigeração

O leite é um dos produtos mais importantes para o consumo humano mas, no entanto, é um ambiente muito favorável à proliferação de bactérias devido à natureza dos seus componentes e também à temperatura de 39º C com que o leite sai do úbere. Estas bactérias estão presentes em diferentes ambientes tais como, dentro e fora do úbere, na ordenha, no ordenhador e nos utensílios.

Deste modo, a quantidade de bactérias presentes no leite estará dependente da saúde do animal, da temperatura em que é conservado e ainda do tempo e forma de transporte desde a exploração até à fábrica.

Na exploração, a refrigeração realizada permite apenas diminuir a velocidade de multiplicação das bactérias, sendo a conservação do leite tanto melhor quanto mais rapidamente se der a redução da sua temperatura.

O principal objectivo da refrigeração é conservar a qualidade inicial do leite até ao momento da sua utilização ou posterior transformação. Em nenhuma circunstância vai melhorar a qualidade de um leite contaminado, podendo apenas impedir o agravamento da contaminação (Alais, 1985).

No que diz respeito às vantagens, estas ocorrem quer a nível do produtor quer a nível da indústria. Para o produtor, é possível o espaçamento entre ordenhas sem que seja obrigatório a coordenação entre elas, o que leva a uma poupança na própria operação e a uma diminuição no que se refere à contaminação do leite. Assim, o preço pago ao produtor será mais elevado. Para a indústria, os custos operacionais no processamento da matéria-prima refrigerada são diminuídos, o horário de recepção do leite é alargado e a qualidade e prazo de validade dos seus produtos é melhorado (Ribeiro e Carvalho, 2009).

Apesar de ser considerada como um factor de modernização, podem ocorrer, para alguns produtores, situações em que estas vantagens não sejam assim tão consideráveis. A principal causa está relacionada com deficiências ao nível da limpeza e desinfecção dos tanques de refrigeração e com a incorrecta utilização do sistema de frio.

Através de uma refrigeração eficaz, limitando o desenvolvimento de microrganismos até ao processamento do leite, é possível ter como garantia a manutenção do nível da qualidade higiénica do mesmo.

No caso de uma refrigeração prolongada, surgem novos problemas relacionados com a higiene pois existirá selecção de uma flora psicotrófica que poderá passar a constituir a flora dominante, influenciando a qualidade dos produtos lácteos.

A refrigeração deve intervir desde o momento da ordenha, sendo que a sua eficácia é tanto maior quanto menos contaminado estiver o leite. É necessário ainda ter em consideração o tempo que decorre desde o momento da recolha do leite e a sua posterior utilização; quanto maior for, mais enérgico deverá ser o arrefecimento (Alais, 1985).

Na grande maioria dos países ou das grandes regiões leiteiras encontra-se fortemente divulgada a técnica de arrefecimento do leite nas explorações pecuárias e a sua posterior conservação durante 2 a 3 dias, a uma temperatura de 3-4 °C. Mas a utilização de tal técnica pode trazer alterações no que diz respeito ao comportamento do leite em queijaria, mais propriamente na aptidão para a coagulação pelo coalho. Na verdade, o arrefecimento provoca efeitos sobre o comportamento do leite no que diz respeito à coagulação.

Em relação ao tempo de coagulação, este é significativamente maior do que nos leites não refrigerados. O gel formado, quando provém de um leite arrefecido, apresenta menos firmeza, maior fragilidade, o que faz com que seja mais difícil de trabalhar mecanicamente, quando comparado com um leite fresco. A obtenção de um gel com menor firmeza origina um esgotamento ou dessoramento mais difícil e menos completo.

Deste modo, o arrefecimento e a conservação do leite ao frio provocam uma diminuição das aptidões queijeiras, sendo que é mais significativo para tempos de conservação de 48 horas ou superiores.

Estes efeitos e estas tendências não estão bem estudados quando se trata de leite de pequenos ruminantes pois a maior parte dos estudos referem-se a leite de vaca. Sabendo-se que a composição e, conseqüentemente, a estrutura caseínica diferem em função do tipo de leite, é importante clarificar o efeito no leite de pequenos ruminantes, tendo ainda em atenção que estes tipos de leite são quase exclusivamente utilizados no fabrico de queijo.

3.4.1. Efeitos ao Nível da Componente Físico-Química

Tais efeitos fazem-se sentir quer ao nível das caseínas, quer ao nível dos equilíbrios salinos, resultando em alterações no que diz respeito às micelas.

No leite, a associação de caseínas é feita tendo como base interações hidrófobas que diminuem quando a temperatura desce. Ocorre, como resultado, uma certa solubilização das caseínas, especialmente a caseína β , que tende a libertar-se da micela, passando à forma de caseína solúvel. Esta solubilização ocorre também ao nível das caseínas κ e α_s , mas em menor escala. Deste modo, através da conservação pelo frio, irá ocorrer um aumento do teor de caseína solúvel.

O arrefecimento conduz a um aumento sensível dos teores em cálcio e fosfato inorgânicos solúveis, devido à deslocação dos equilíbrios da fase solúvel, com dissociação do complexo citrato de cálcio e do fosfato de cálcio. Ocorre um aumento dos teores em cálcio dissolvido e em cálcio iónico e ainda dos teores em fosfato inorgânico.

O fosfato de cálcio tem como principal função a ligação entre as submicelas que constituem a micela do leite. Por arrefecimento do leite, dá-se a dissolução duma parte do fosfato de cálcio coloidal, tendo como consequência a diminuição das dimensões das micelas.

Devido ao acréscimo da proporção de caseína solúvel, ocorre a diminuição da carga mineral como resultado do deslocamento do fosfato de cálcio e do enfraquecimento das interações hidrófobas, marcado pela forte solubilização da caseína β . Mas estes dois efeitos encontram-se fortemente interligados visto que a proporção de cálcio coloidal solubilizado por arrefecimento afecta a libertação da caseína β , e um aumento da migração do cálcio micelar favorece a solubilização da caseína β devido ao aumento da sua proporção ligada por interações hidrófobas.

Ao mesmo tempo que ocorre uma diminuição da dimensão das micelas, existe um aumento da hidratação das mesmas.

Apesar dos efeitos que ocorrem ao nível das micelas de caseína, resultantes do arrefecimento e conservação pelo frio, estes são reversíveis, mas as trocas entre a fase coloidal e a fase aquosa realizam-se de forma bastante lenta. Em situações de arrefecimento muito prolongado, acima das 48 horas, estas alterações podem tornar-se irreversíveis, afectando drasticamente a aptidão tecnológica do leite. Em particular, os leites mais ricos em caseína β , como o leite de cabra, terão tendência a ser mais sensíveis a estes efeitos.

Segundo a experiência realizada por Lenoir e Schneid (1987), para um leite conservado durante 48 horas a uma temperatura de 2 a 4 °C, torna-se necessário a permanência do mesmo durante 18 a 24 horas a 20 °C, de maneira a se restabelecerem os equilíbrios minerais e a se devolver às micelas a sua composição e dimensões originais. Mas esta reversibilidade não é total porque a reversão dos equilíbrios salinos pode não ser acompanhada pela reversão da estrutura micelar.

Existem outras formas de correcção que podem ser aplicados ao leite arrefecido, com o objectivo de acelerar os processos de reversibilidade anteriormente referidos, tais como (Luquet, 1985):

- Adição de cloreto de cálcio 0,1 g/L a 0,2 g/L de CaCl_2 ;
- Ligeira acidificação do leite ou termização;
- Maturação do leite durante 15 a 16 horas a uma temperatura de 10 - 12 °C, na presença de uma pequena quantidade de fermento láctico;
- Manutenção do leite a 30 °C durante 2 horas, antes da adição do coalho;
- Utilização do material retido por ultra-filtração, enriquecendo-o em cálcio e aumentando em simultâneo o teor de proteína.

3.4.2. Efeitos ao Nível da Componente Microbiana

A flora microbiana inicial do leite influencia grandemente a qualidade do leite cru e, consequentemente a qualidade dos produtos com ele fabricados, pois a deterioração é determinada pelo número e tipo de microrganismos presentes. A utilização da refrigeração na exploração não permite que as bactérias contaminantes iniciais se reproduzam até o produto ser processado industrialmente (Fonseca, 2006). Por outro lado, favorece a selecção de microrganismos beneficiando o crescimento de bactérias psicotróficas dos géneros *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* e outras (Alais, 1985).

Os microrganismos psicotróficos são capazes de se desenvolverem normalmente a temperaturas entre os 1 e 10°C, podendo alguns deles exercer uma acção nefasta sobre o leite cru que seja mantido durante um período prolongado de tempo a estas temperaturas. Deste modo, não é possível assegurar que a conservação do leite a baixas temperaturas por períodos elevados de tempo garanta uma limitação total da actividade microbiana, pois os microrganismos psicotróficos continuam activos.

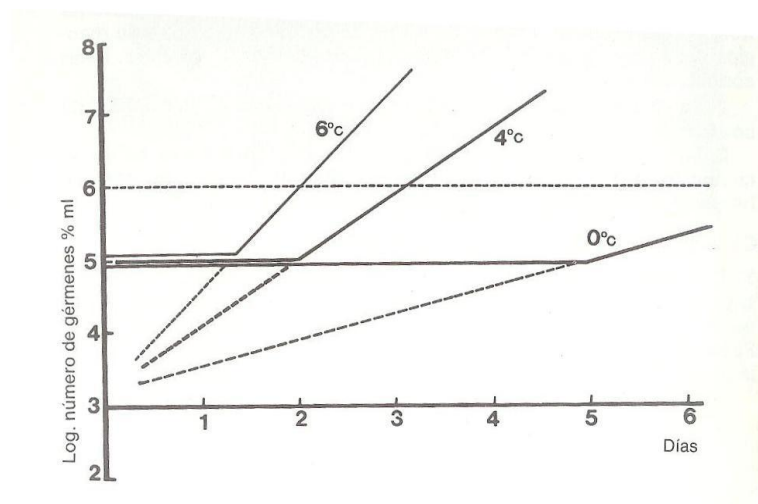


Figura 7 - Evolução da flora microbiana consoante a temperatura de refrigeração e o período de tempo (Alais, 1985)

A representação gráfica da Figura 7 foi realizada por Auclair (1979), que representa a evolução da microflora do leite refrigerado. As curvas estão construídas a partir de vários resultados obtidos em laboratório. Os traços horizontais contínuos mostram que a população é aparentemente constante durante um pouco mais de 1 dia a uma temperatura de 6 °C, durante dois dias a 4 °C e durante 5 dias a 0 °C.

Se no caso dos queijos fabricados a partir de leite tratado pelo calor os problemas relacionados com o efeito do frio na flora microbiana praticamente não se colocam, dada a sua eliminação por esses tratamentos, o efeito da refrigeração pode ser muito relevante no caso do queijo fabricado a partir de leite cru, como na maior parte do queijo tradicional, feito a partir de pequenos ruminantes, pode tornar-se decisivo, uma vez que, nestes casos, se procuram exactamente vantagens associadas à flora microbiana original que, como se referiu, pode ser muito afectada e mesmo substituída por grupos microbianos irrelevantes para a qualidade do queijo e até, frequentemente, muito nocivos e altamente prejudiciais.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Para poder ser realizado este trabalho foi necessária a colaboração da Queijaria *Flor de Cardo* através do fornecimento das amostras de leite que foram utilizadas no presente estudo.

A *Flor de Cardo* foi criada em 2003, tendo por base uma antiga queijaria, dedicando-se deste modo à produção e comercialização de queijos tradicionais da zona de Azeitão, mais propriamente o Queijo de Azeitão DOP.

Como resultado de uma estratégia que tem como principal objectivo a consolidação da qualidade e tipicidade regional em paralelo com a modernização das técnicas de produção, a *Flor de Cardo* criou os produtos da gama Divinus.



4.1. Recolha e Preparação das amostras

Todos os ensaios foram realizados com amostras de leites fornecidos pela queijaria *Flor de Cardo*. Os dois tipos de leite utilizados, denominados genericamente de B e V, correspondendo a produtores diferentes; foram recolhidos no tanque de refrigeração da queijaria, tendo o período de recolha das amostras decorrido de Março a Maio, em recipientes próprios previamente esterilizados. As amostras foram depois transportadas para o laboratório sob refrigeração, em caixas isotérmicas, o período de tempo que decorreu desde a recolha das amostras até à realização das respectivas análises iniciais nunca foi superior a 8 horas.

Já no laboratório, as amostras dos leites previamente recolhidas foram mantidas a uma temperatura de 6 °C. Foram reservadas cerca de 200 mL de cada amostra para a realização das análises físico-químicas, e ainda 100 mL para avaliação da aptidão tecnológica inicial de cada leite, antes da refrigeração.

Os ensaios de refrigeração decorreram durante o máximo de 6 dias, tendo sido efectuadas análises de avaliação da aptidão à coagulação dos dois tipos de leite nos dias zero, um, dois, três e seis.

4.2. Análises Físico-Químicas

No dia zero, correspondente ao dia em que foi efectuada a recolha, as amostras dos leites B e V que iriam ser utilizadas para a avaliação da aptidão para a coagulação foram colocadas em banho-maria a uma temperatura de 32°C as amostras utilizadas para o trabalho de laboratório foram colocadas a cerca de 38°C, homogeneizadas e posteriormente colocadas a uma temperatura de 20°C.

Foram então realizadas as seguintes análises físico-químicas para cada amostra de leite:

- pH (20°C) – por potenciometria com recurso a um potenciómetro 713 pH Meter Metrohm, Herisau, Swiss;
- Acidez – de acordo com a Norma Portuguesa NP 470 (DGQ, 1983), *“Leites. Determinação da acidez.”*;
- Matéria Gorda – de acordo com a Norma Portuguesa NP 469 (DGQ, 1983), *“Leites. Determinação da matéria gorda (Técnica de Gerber). Processo corrente.”*;
- Proteína Bruta – de acordo com a Norma Portuguesa NP 1986 (IPQ, 1991), *“Leites. Determinação do teor de proteína bruta. Técnica de Kjeldahl.”*;
- Resíduo Seco e Resíduo Seco Isento de Matéria Gorda – de acordo com a Norma Portuguesa NP 475 (DGQ, 1983), *“Leites. Determinação do resíduo seco e resíduo seco isento de matéria gorda.”*;
- Densidade (20°C) – de acordo com a Norma Portuguesa NP 474 (DGQ, 1983), *“Leites. Determinação da densidade relativa. Processo corrente.”*;
- Redução do Azul de Metileno – de acordo com a Norma Portuguesa NP 456 (DGQ, 1983), *“Leites. Ensaio preliminares de análise. Prova pelo azul-de-metileno.”*

Para complemento da avaliação da qualidade microbiológica do leite, efectuada indirectamente através da prova pelo azul-de-metileno, foi efectuado ainda, em cada ensaio, o Teste de Lactofermentação, que consistia em colocar dois tubos de ensaio com cerca de 10 mL de leite, de cada amostra, a uma temperatura de 37 °C durante cerca de 24 horas, sendo posteriormente registada a existência ou ausência de alterações ocorridas no tubo, tais como, coagulação, proteólise ou produção de gás. O tipo de coágulo formado dá a indicação do tipo de flora bacteriana. Um coágulo uniforme, firme e contínuo significa a presença de bactérias produtoras de ácido láctico, enquanto um coágulo com aspecto

esponjoso e cheio de orifícios de gás ou parcialmente liquefeito com separação de soro denuncia a presença de bactérias formadores de gases e proteolíticas.

4.3. Aptidão tecnológica

O aspecto central do trabalho era a avaliação do efeito da refrigeração no fabrico de queijo, o qual depende muito do comportamento do leite na fase principal do fabrico, a coagulação. Assim, foi avaliada a aptidão tecnológica do leite, através do comportamento na coagulação com recurso ao Optigraph[®], segundo metodologia desenvolvida no departamento do L-INIA, INRB, IP, onde foi desenvolvido o trabalho.

O Optigraph[®] foi desenvolvido (1999) pelo INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) de Grignon e pela empresa Ysebaert com o objectivo de acompanhar e caracterizar a aptidão tecnológica do leite para a coagulação em laboratórios de indústrias de lacticínios e, ainda, de substituir um outro equipamento, o Formagraph[®], que era um método reológico inadequado à integridade do frágil coágulo.

É um método óptico que mede a atenuação do sinal óptico no infravermelho próximo, uma vez que, ao longo do processo de coagulação, o feixe luminoso que atravessa o leite é progressivamente atenuado devido às alterações que ocorrem na estrutura das micelas de caseína (Ysebaert, 2000). O resultado de cada ensaio vem expresso em “optigramas” (Figura 9), construídos de acordo com a evolução do sinal ao longo da coagulação do leite.

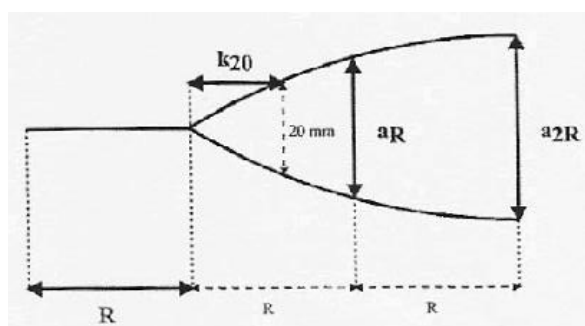


Figura 8 - Esquema da representação gráfica tipo do Optigraph[®] e indicação dos respectivos parâmetros que são medidos pelo equipamento
(adaptado de Mahaut *et al.*, 2000)

Os parâmetros extraídos pelo Optigraph® são:

R – Tempo de início da floculação ou de coagulação (em minutos ou segundos);

AR – Parâmetro da consistência do gel, mede a intensidade do sinal óptico quando decorreu um tempo igual a 2R (Volt);

A2R – Parâmetro da consistência do gel, mede a intensidade do sinal óptico quando decorreu um tempo igual a 3R (Volt);

OK20 – Tempo necessário, a partir de R, até que se obtenha uma consistência padrão equivalente a 6,5 Volt (em minutos ou segundos);

A₂₀, A₄₀ – Intensidade do sinal óptico quando decorridos 20 e 40 minutos, respectivamente, desde o início do ensaio (Volt).

Permite-nos ainda obter outros parâmetros não explicitados, por exemplo, no caso de coagulações que ocorram mais tardiamente.

O aparelho apresenta um suporte de amostras com a capacidade máxima para 10 amostras de leite, podendo o aparelho funcionar sem que todas as células estejam ocupadas. O volume de leite a utilizar é de 10 mL por célula, a quantidade de coagulante administrada pelo operador é, em regra, de 1 mL. A temperatura a que decorre o ensaio pode variar entre o 25 e os 45 °C.

Antes do início de cada ensaio, o aparelho calibra cada célula cheia e seleccionada individualmente pelo operador, para um sinal inicial padrão que, no caso do leite de cabra, foi definido em 1 Volt. Isto é realizado após a colocação do aparelho à temperatura em que irá ocorrer a coagulação, isto é, a 32° C. Cada ensaio teve a duração de 90 minutos.

Para proceder à realização de cada ensaio com recurso ao Optigraph, foi necessário colocar a amostra de cada leite em banho-maria, a uma temperatura de 32° C, durante aproximadamente 1 hora para que se obtivesse o equilíbrio físico-químico de cada amostra.

Foram então colocadas em cada célula 10 mL das duas diferentes amostras de leite e 1 mL de solução de coagulante.

Os coagulantes utilizados foram preparados da seguinte maneira:

- Coalho Standard – solução de 0,08 % (m/v) de coagulante (*Extracto de cuajo en polvo* Granday® 6000, SBI, Barcelona, 96 ± 2 % Quimosina), designado por standard pois tem sido utilizado no laboratório para comparação entre ensaios;

-
- Coalho Granday – solução 0,06 % (v/v), *Extrait de présure*, min. 520 mg/L quimosina, Lab. Granday-Roger, France.

Nos dias 1, 2, 3 e 6, respectivamente, retiraram-se 200 mL de leite de cada uma das amostras para determinação de pH e para avaliação da aptidão à coagulação, tendo sido repetidos os métodos descritos anteriormente.

4.4. Análise Estatística dos Resultados

Todos os resultados e observações efectuadas foram registados, tendo os dados sido tratados, utilizando o programa *Statistica*TM (Statsoft, USA), através da estatística descritiva e análise de variância, comparando o efeito dos factores (produtor, tempo de refrigeração) através do teste de Tukey.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Composição inicial do leite

No início de cada ensaio foi realizada a caracterização das duas amostras de leite de produtores diferentes utilizadas. O quadro seguinte apresenta os valores médios obtidos e o desvio-padrão dos vários parâmetros físico-químicos avaliados.

Quadro IV – Comparação entre a composição média dos leites utilizados provenientes de dois produtores B e V.

	PRODUTOR B		PRODUTOR V	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
pH	6,65 ^a	0,03	6,66 ^a	0,06
Acidez (mL NaOH N/L)	18,1 ^a	1,82	18,5 ^a	2,10
Densidade (20°C)	1,0298 ^a	0,0003	1,0296 ^a	0,0005
Matéria Gorda (g/100g)	4,51 ^a	0,2	4,64 ^a	0,11
Proteína Bruta (g/100g)	3,30 ^b	0,11	3,57 ^a	0,25
Caseína (g/100g)	2,36 ^b	0,08	2,64 ^a	0,18
RST (g/100g)	13,25 ^a	0,25	13,25 ^a	0,18
RSIMG (g/100g)	8,75 ^a	0,16	8,70 ^a	0,25

Nota: Em cada linha, letras diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05)

O leite proveniente dos dois produtores, B e V, foi muito semelhante, quanto à composição química, à acidez e ao pH. Apenas foram reveladas diferenças significativas (P<0,05) a nível dos teores em proteína e em caseína, embora neste último caso, o teste de Tukey não valorize como significativas as diferenças encontradas.

Considerando estes parâmetros físico-químicos como os que têm maior influência no rendimento de transformação em queijo, é possível constatar que em ambos os produtores, os leites apresentam teores em matéria gorda e em proteína que, em média, se enquadram perfeitamente nos valores anteriormente utilizados como referência.

5.2. Conservação do leite durante a refrigeração

Nos primeiros ensaios de refrigeração, verificou-se que, à temperatura utilizada (6 °C), não era possível prolongar os mesmos para além de 2 dias e mesmo ao fim de 2 dias, os resultados obtidos eram mais afectados pela acidificação do que propriamente pela refrigeração. Dada esta influência da flora microbiana no comportamento do leite

relativamente à metodologia analítica utilizada, designadamente através da evolução do pH ao longo da refrigeração, foi inicialmente tentada uma compensação desta evolução, a qual não se mostrou eficaz, produzindo muita instabilidade e comportamentos erráticos nos ensaios de coagulação.

Quadro V – Evolução do pH com a conservação a 6° C.

	PRODUTOR B		PRODUTOR V		GLOBAL	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
0 dias	6,65 ^a	0,02	6,66 ^a	0,03	6,66 ^a	0,03
1 dia	6,63 ^a	0,04	6,66 ^a	0,04	6,64 ^a	0,04
2 dias	6,45 ^{ab}	0,15	6,50 ^a	0,16	6,48 ^{ab}	0,15
3 dias	6,27 ^b	0,23	6,36 ^a	0,32	6,32 ^b	0,26

Nota: Em cada coluna, letras diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05)

Não foi, assim, possível efectuar ensaios de refrigeração sem utilizar um meio de limitar a actividade microbiana, pois a evolução do pH do leite certamente se sobreporia ao efeito directo da refrigeração sobre o complexo proteico, o qual se pretendia avaliar pelo comportamento na coagulação.

De facto, o tempo de conservação, mesmo a 6 °C, provocou uma diminuição significativa no pH do leite (Quadro V), em qualquer dos produtores, motivando que, ao segundo dia, o leite ultrapasse o pH limiar de afectação de uma adequada coagulação (na Figura 9 apontada como 6,55). As diferenças entre leites foram certamente ditadas pela qualidade microbiológica dos mesmos, que não estava em avaliação neste trabalho.

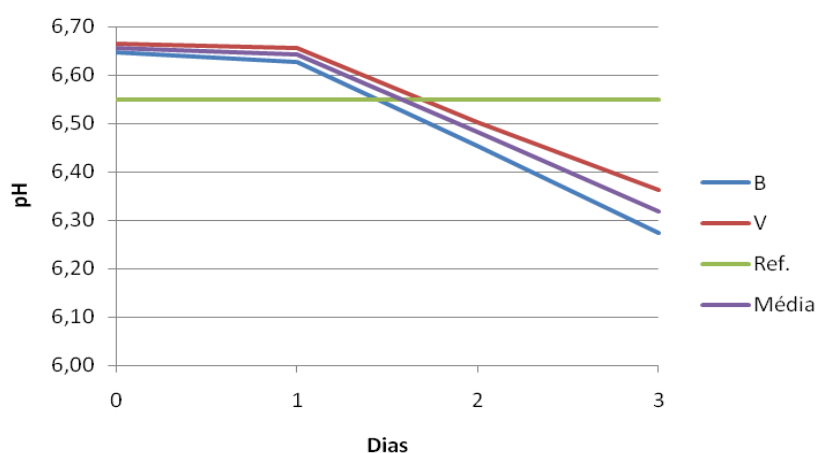


Figura 9 - Evolução do pH com a conservação.

Para além destes aspectos, a valores tão baixos de pH, o Optigraph deixa de poder dar resposta analítica, uma vez que a coagulação é tão rápida que excede o tempo mínimo de detecção do início da floculação. Foi, por isso, necessário recorrer à adição de um conservante ao leite em ensaio de refrigeração, permitindo que a flora microbiana não evoluísse de modo a não prejudicar muito a avaliação do efeito da refrigeração.

A solução encontrada foi a adição de conservante (solução de azida de sódio a 0,04% m/v) para limitar a acção microbiana de modo a ser possível estender os ensaios de refrigeração a um tempo prolongado (6-7 dias), condição hoje algo frequente a nível do fornecimento de leite às unidades de transformação. Os lotes iniciais de leite foram divididos em dois, um dos quais adicionado de solução conservante (0,5 mL/100 mL de leite) e a avaliação analítica ao longo da refrigeração foi efectuada em ambos os sub-lotes.

Confirmando, de certo modo, os resultados da evolução do pH apresentados no Quadro V e na Figura 9, a prova pela redução do azul-de-metileno mostrou, em média, uma melhor qualidade microbiológica do leite do Produtor V, que está também patente na evolução mais rápida e mais marcada do pH no Produtor B, como se pode observar na Figura 9.

Quadro VI - Tempo de redução do azul-de-metileno para o leite dos diferentes ensaios.

	PRODUTOR B	PRODUTOR V
Ensaio 1	1 h	> 5 h
Ensaio 2	½ h	½ h
Ensaio 3	5 h	5 h
Ensaio 4		4 h
Ensaio 5	½ h	6 h
Ensaio 6	1 h	1 h
Ensaio 7	> 3 h	> 3 h

Pelo contrário, os resultados obtidos para o teste de lactofermentação não foram muito conclusivos. O leite de ambos os produtores mostraram evoluções, em 24 horas, relativamente semelhantes, sendo o efeito da flora microbiana, avaliada pela formação de coágulo ácido, mais intenso para o leite do produtor B, o que está genericamente de acordo com os resultados da redução de azul-de-metileno.

5.3. Aptidão à Coagulação inicial do leite

Apesar da semelhança genérica das respectivas composições, os leites provenientes dos dois produtores, B e V, diferiram bastante, em média, quanto à aptidão tecnológica (Quadro VII), no que se refere à consistência do gel, por qualquer dos modos de avaliação, e logo desde o início da agregação micelar. Estas diferenças significativas exprimem, de certo modo, as diferenças de composição dos dois produtores, sobretudo ao nível do teor de proteína e, em consequência, de caseína.

Quadro VII – Aptidão tecnológica do leite utilizado nos ensaios, em função do Produtor.

	PRODUTOR B		PRODUTOR V	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
R (s)	710 ^a	149	721 ^a	43
A20 (V)	1,96 ^b	0,66	2,85 ^a	0,33
A40 (V)	3,03 ^b	0,45	4,67 ^a	0,78
AR (V)	2,35 ^b	0,20	3,61 ^a	0,64
A2R (V)	3,08 ^b	0,44	4,56 ^a	0,85

Nota: Em cada linha, letras diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05)

De facto, quer através dos valores de consistência medidos desde o início do ensaio (A₂₀ e A₄₀), quer dos valores de firmeza medidos a partir do início da floculação (R), em tempos múltiplos de R (AR e A2R), a consistência do gel de leite V foi sempre superior, atingindo cerca de mais 50 % do que no caso do leite B. Trata-se de um facto relevante tecnologicamente, que pode ter explicação não apenas na composição (maior teor em caseína) do leite V mas também na qualidade da proteína, proporcionando coalhadas com melhores condições de manipulação.

O muito ligeiro aumento na média dos valores de R, referentes ao início da agregação micelar, para o leite do produtor V face ao de B, não foi estatisticamente significativo, não afectando, por isso, significativamente, os valores obtidos para os parâmetros AR e A2R.

5.4. Efeito da Refrigeração na Aptidão Tecnológica do Leite

O Quadro VIII resume o resultado da análise de variância relativamente ao efeito dos factores em estudo (Produtor e Tempo de Conservação) e respectiva interacção na aptidão tecnológica do leite, e o Quadro IX mostra os resultados obtidos para os diversos parâmetros que tentam avaliar a aptidão tecnológica do leite de cabra em função do tempo

de refrigeração de 6 °C, a partir da globalidade dos ensaios, efectuados com o coagulante líquido Granday, após adição de conservante ao leite para prevenir o efeito da flora microbiana, como se referiu no capítulo anterior. Mostra ainda o resultado da análise de variância efectuado tomando como factor apenas o tempo de refrigeração, uma vez que a análise de variância, apesar de a mesma análise, considerando como factores o produtor, o tempo de refrigeração e a interacção destes dois factores (Quadro VIII), apenas ter revelado um efeito significativo do produtor ($P < 0,05$).

Quadro VIII - Resumo da análise estatística para os factores Produtor e Tempo de Conservação (coalho Granday)

	pH	R (s)	A ₂₀ (V)	A ₄₀ (V)	AR (V)	A2R (V)
Produtor	ns	**	**	**	ns	ns
Tempo Conservação	*	ns	ns	ns	ns	ns
Produtor*Tempo Conservação	ns	ns	ns	ns	ns	ns

** - $P < 0,01$; * - $P < 0,05$; ns - não significativo

Quadro IX – Parâmetros de aptidão tecnológica do leite em função do tempo de conservação (global).

		pH	R (s)	A ₂₀ (V)	A ₄₀ (V)	AR (V)	A2R (V)
0 dias	Média	6,66 ^{ab}	1253 ^a	0,16 ^a	2,70 ^a	3,04 ^a	3,95 ^a
	Desvio Padrão	0,03	222	0,23	0,56	0,93	1,34
	N	9	9	9	9	9	9
1 dia	Média	6,67 ^a	1326 ^a	0,04 ^a	2,55 ^a	3,11 ^a	3,77 ^a
	Desvio Padrão	0,03	198	0,09	0,38	0,99	1,41
	N	9	9	9	9	9	9
2 dias	Média	6,63 ^{ab}	1302 ^a	0,08 ^a	2,62 ^a	3,05 ^a	3,61 ^a
	Desvio Padrão	0,05	201	0,22	0,48	0,91	1,35
	N	7	9	9	9	9	9
3 dias	Média	6,60 ^{ab}	1260 ^a	0,09 ^a	2,83 ^a	3,21 ^a	3,71 ^a
	Desvio Padrão	0,07	162	0,15	0,50	1,10	1,63
	N	6	6	6	6	6	6
6 dias	Média	6,60 ^b	1234 ^a	0,20 ^a	3,09 ^a	3,44 ^a	4,24 ^a
	Desvio Padrão	0,05	213	0,27	0,56	1,17	1,71
	N	7	7	7	7	7	7

Nota: Em cada coluna, letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$)

Apenas o produtor teve um efeito significativo sobre o R ($P < 0,05$), o que significa que este depende mais da condição do leite e não estritamente da conservação, a não ser que o pH varie substancialmente com esta (Quadro XI). Por isso é que se utilizou conservante. No quadro VIII, pode observar-se que o R não foi influenciado significativamente pelo tempo de refrigeração.

Apesar do uso do conservante, o pH sofreu um efeito significativo do tempo de conservação (apenas para os 6 dias) mas, como se viu, não foi suficiente para afectar muito o R, até porque este é também influenciado por outros factores. Como já vimos antes, a diferença de pH do leite dos dois produtores apenas foi diferente a partir do segundo dia de conservação (sem conservante), muito por reflexo da eventual diferença de qualidade microbiológica do leite.

Do mesmo modo, as diferenças na firmeza do gel em função do tempo de conservação não foram significativas. Apenas se nota uma tendência para uma diminuição para os diversos parâmetros utilizados, verificando-se uma evolução foi aparentemente mais errática, resultando numa evolução crescente da média. Na Figura 10, onde se mostram estas tendências, não aparece o parâmetro A_{20} , pois os valores médios obtidos ficaram próximos de zero (Quadro IX), uma vez que o tempo médio de início da floculação (R) se situou próximo dos 20 minutos.

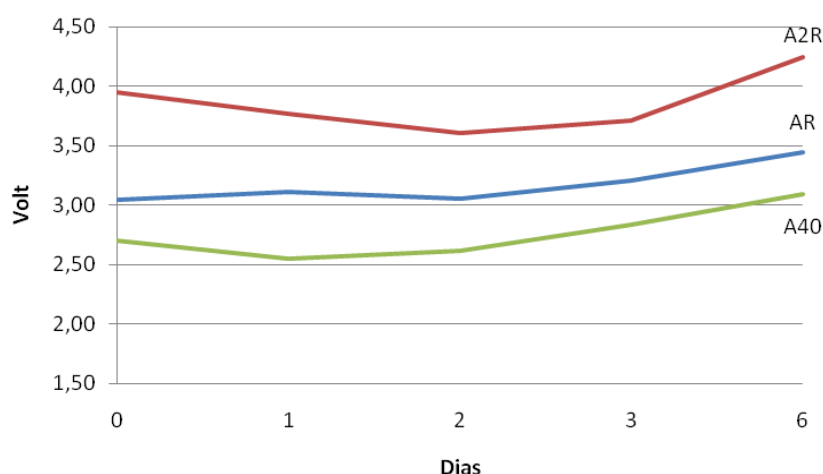


Figura 10 – Evolução média da firmeza do gel ao longo do tempo.

Como o leite dos produtores dava, no início dos ensaios, para a aptidão tecnológica, resultados substancialmente diferentes, foi decidido tratar os produtores em separado, até porque os desvios-padrão se tornavam muito elevados, podendo afectar decisivamente a análise estatística.

Para o leite do produtor B, os resultados foram semelhantes aos globais, não se verificando um efeito significativo do tempo de conservação. A tendência de evolução da firmeza do gel foi de diminuição até aos 2 dias, aumentando depois. Apenas o parâmetro AR mostrou um resultado significativamente mais baixo aos 2 dias.

Quadro X – Parâmetros de aptidão tecnológica do leite em função do tempo de conservação – Produtor B.

		pH	R (s)	A ₂₀ (V)	A ₄₀ (V)	AR (V)	A _{2R} (V)
0 dias	Média	6,65 ^a	1075 ^a	0,35 ^a	2,36 ^a	2,20 ^{ab}	2,81 ^a
	Desvio Padrão	0,02	130	0,25	0,29	0,13	0,63
	N	4	4	4	4	4	4
1 dia	Média	6,65 ^a	1147 ^a	0,10 ^a	2,31 ^a	2,21 ^{ab}	2,65 ^a
	Desvio Padrão	0,02	63	0,12	0,14	0,07	0,25
	N	4	4	4	4	4	4
2 dias	Média	6,64 ^a	1130 ^a	0,19 ^a	2,28 ^a	2,19 ^b	2,35 ^a
	Desvio Padrão	0,03	107	0,32	0,21	0,10	0,20
	N	4	4	4	4	4	4
3 dias	Média	6,58 ^a	1128 ^a	0,18 ^a	2,38 ^a	2,30 ^{ab}	2,38 ^a
	Desvio Padrão	0,08	55	0,18	0,17	0,12	0,12
	N	3	3	3	3	3	3
6 dias	Média	6,60 ^a	1069 ^a	0,38 ^a	2,64 ^a	2,46 ^a	2,85 ^a
	Desvio Padrão	0,04	118	0,33	0,17	0,11	0,36
	N	3	3	3	3	3	3

Nota: Em cada coluna, letras diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05)

Para o leite do produtor V, repete-se o verificado para o produto B, incluindo a tendência de evolução da firmeza do gel, em que o aumento da mesma para o final do ensaio contraria o que seria de esperar. É evidente que há factores que poderão intervir nesta evolução, como a diminuição do pH, mascarando o efeito da refrigeração, em particular nalguns dos ensaios, uma vez que isso não transparece na evolução do pH expressa pela média dos ensaios.

Quadro XI – Parâmetros de aptidão tecnológica do leite em função do tempo de conservação – Produtor V.

		pH	R (s)	A ₂₀ (V)	A ₄₀ (V)	AR (V)	A2R (V)
0 dias	Média	6,66 ^a	1395 ^a	0,01 ^a	2,97 ^a	3,72 ^a	4,87 ^a
	Desvio Padrão	0,03	170	0,02	0,60	0,64	0,97
	N	5	5	5	5	5	5
1 dia	Média	6,68 ^a	1469 ^a	0,00 ^a	2,75 ^a	3,82 ^a	4,90 ^a
	Desvio Padrão	0,02	134	0,00	0,41	0,73	1,09
	N	5	5	5	5	5	5
2 dias	Média	6,62 ^a	1439 ^a	0,00 ^a	2,90 ^a	3,75 ^a	4,62 ^a
	Desvio Padrão	0,07	138	0,00	0,47	0,55	0,86
	N	4	5	5	5	5	5
3 dias	Média	6,62 ^a	1391 ^a	0,00 ^a	3,27 ^a	4,12 ^a	5,04 ^a
	Desvio Padrão	0,07	105	0,00	0,12	0,73	1,15
	N	3	3	3	3	3	3
6 dias	Média	6,60 ^a	1357 ^a	0,07 ^a	3,43 ^a	4,18 ^a	5,29 ^a
	Desvio Padrão	0,06	185	0,15	0,51	1,01	1,54
	N	4	4	4	4	4	4

Nota: Em cada coluna, letras diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05)

Da análise dos dois últimos quadros (Quadros X e XI), devem realçar-se as diferenças entre o leite proveniente dos dois produtores. Já referimos atrás que a composição média do leite diferia significativamente em função da proveniência, nomeadamente a nível da componente proteica, e que essas diferenças poderiam explicar o comportamento na coagulação também diferente, no que se refere à firmeza da coalhada. A análise destes dois quadros mostra que essas diferenças se mantêm ao longo da refrigeração.

O leite do produtor V, mais rico em sólidos, coagula um pouco mais tarde que o leite do produtor B, revelando um valor de A₂₀ muito próximo de zero, mas ao fim de 40 minutos, a firmeza do gel já é superior. Em função do R, a consistência do gel atinge, para o leite do produtor V, valores bem mais elevados. Ao longo da refrigeração (Figuras 11 e 12), estas diferenças mantêm-se, bem como a tendência, embora não significativa, de crescimento da firmeza do gel com o evoluir da refrigeração. Esta pode ter eventualmente alguma relação com a ligeira diminuição do pH, a qual não foi, também, estatisticamente significativa.

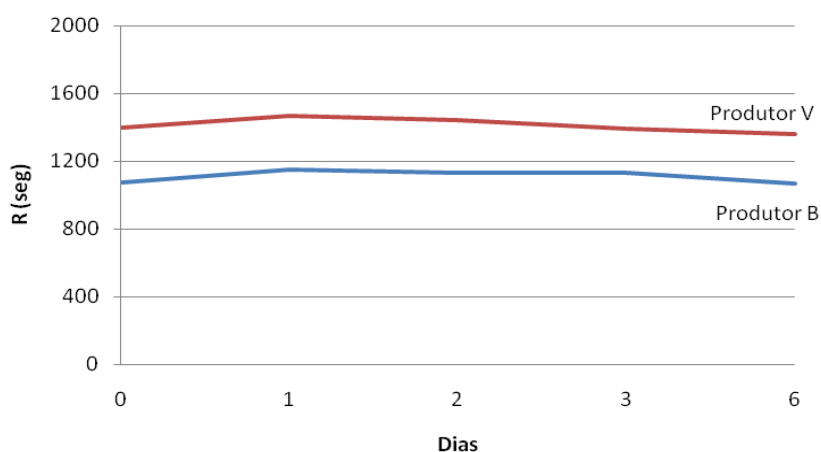


Figura 11 - Evolução do tempo de início de coagulação, em função do produtor.

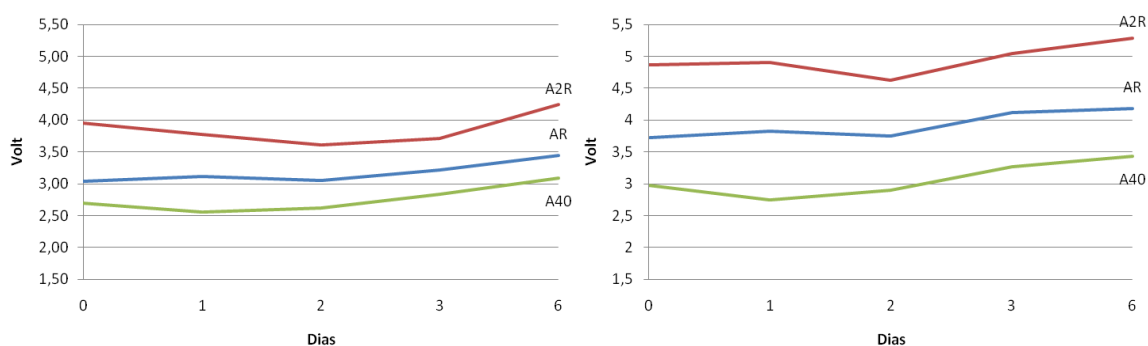


Figura 12 - Evolução da firmeza do gel para o produtor B e para o produtor V, ao longo do tempo

Finalmente, importa referir que os resultados obtidos com o coagulante utilizado no laboratório como padrão, foram semelhantes aos que foram apresentados, pelo que não são apresentados aqui mas ficam reunidos em anexo. As diferenças referem-se aos aspectos numéricos, não se revelando grandes diferenças a nível do resultado da análise estatística (Quadro XII).

Quadro XII - Resumo da análise estatística para os factores Produtor e Tempo de Conservação (coagulante padrão)

	pH	R (s)	A ₂₀ (V)	A ₄₀ (V)	AR (V)	A2R (V)
Produtor	ns	*	**	**	**	**
Tempo Conservação	*	ns	**	ns	ns	ns
Produtor*Tempo Conservação	ns	ns	ns	ns	ns	ns

** - P < 0,01; * - P < 0,05; ns - não significativo

A razão principal da escolha da apresentação dos resultados obtidos com o coalho líquido Granday, prendeu-se com o facto de a solução utilizada ter sido decidida em função da resposta do leite em ensaios prévios, o que permitiu encontrar condições mais adequadas para a obtenção de resultados para a maior parte dos parâmetros, nomeadamente de consistência; a concentração utilizada como referência para o coagulante padrão revelou algumas lacunas para alguns parâmetros que dificultaram a análise de alguns resultados.

No entanto, esta escolha também revelou algumas desvantagens, as quais no entanto, não suplantaram as vantagens. Por exemplo, a utilização do coagulante *standard*, mais concentrado, impediu, em algumas situações, principalmente para o final da refrigeração, a determinação de R. Em contrapartida, o coagulante líquido Granday não permitiu a determinação do parâmetro 0K20, que seria interessante explorar, uma vez que é uma medida da velocidade de agregação micelar; mesmo com o coagulante *standard*, só foi possível avaliar este parâmetro, tal como está programado (consistência padrão de 6,5 V), para o leite do produtor V, pois o leite de B nunca atingiu estes valores.

6. CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO

Os resultados demonstram que, nas condições dos ensaios efectuados, não se verificaram efeitos significativos da refrigeração na aptidão tecnológica do leite, embora se tenha revelado uma tendência para a sua depreciação ao longo dos primeiros dias de refrigeração, nomeadamente da firmeza do gel ou da coalhada. Ao contrário do que se aponta em geral, o prolongamento da refrigeração pareceu repor as características do gel, suplantando-se mesmo a firmeza do gel determinada no início dos ensaios.

Estas serão conclusões algo positivas para o fabrico de queijo se não se considerar a evolução microbiana ao longo da refrigeração e do seu reflexo nas características físico-químicas do leite, nomeadamente a nível do pH e da acidificação. A refrigeração do leite por tempo prolongado pode conduzir a uma forte diminuição das condições físico-químicas para utilização do leite de cabra para o fabrico de queijo. As características da matéria-prima utilizada no fabrico de queijo, apresentam então um papel muito importante nas características do produto final obtido.

De facto, um dos efeitos mais sentidos devido à refrigeração foi a evolução do pH, que a uma temperatura de 6° C registou uma diminuição algo significativa, motivando que ao fim de apenas dois ou três dias de conservação, dependendo da qualidade inicial do leite, se atinjam níveis de pH que prejudicam todo o processo de fabrico de queijo, devido ao difícil controlo da coagulação.

Assim, parece que, desde que seja possível controlar as contaminações do leite, a conservação através de uma refrigeração adequada, permite-nos obter uma matéria-prima a utilizar no fabrico de queijo minimamente adequada.

Um outro aspecto relevante é a diferença de comportamento entre o leite dos produtores, que aponta para vantagens óbvias em seleccionar o leite mais adequado ao fabrico de queijo. Estas vantagens tecnológicas têm origem, como referimos, na composição mais adequada do leite, nomeadamente no que se refere a teor proteico mais elevado, mas os aspectos relacionados com a composição da própria caseína são também relevantes, como demonstrado pela vasta bibliografia sobre a matéria, em particular em sistemas de produção e em espécies ou raças onde a selecção e o melhoramento ainda não permitiram apontar para uma especialização face à produção de leite.

Para além da necessidade de se efectuarem mais estudos sobre o efeito da refrigeração do leite no fabrico de queijo, nomeadamente em leite de pequenos ruminantes, e utilizando metodologias que permitam um aprofundamento das questões envolvidas, este aspecto relacionado com a composição do leite de cabra e o melhoramento das suas propriedades tecnológicas é um dos trabalhos futuros que os resultados sugerem como importante.

7. BIBLIOGRAFIA

ALAIS, C. (1985) *Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera*. Versão espanhola por Don António Lacasa Godina. Editorial Reverté, S.A., Barcelona.

ALVES, S. M. P. (2003) *Efeito de alguns factores tecnológicos na coagulação do leite com extractos de cardo (Cynara cardunculus L.)* Relatório de fim de curso de Engenharia Agro-Industrial. Universidade Técnica de Lisboa. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa.

AMIGO, L., RECIO, I., RAMOS, M. (2000) Genetic polymorphism of ovine milk proteins: its influence on a technological properties of milk – a review. *International Dairy Journal*, 10, 135-149.

AMIOT, J. (1991) *Ciencia y tecnologia de la leche. Principio y aplicaciones*. Editora Acribia. Zaragoza.

BRULE, G., LENOIR, J. (1987) *A Coagulação do leite*. **In:** Eck, A. (1987), *O Queijo*, pp 31. Coleção EuroAgro – Publicações Europa-América.

BRULE, G., LENOIR, J. (1990) *La Coagulation du lait*. **In:** Eck, A. (1990), *Le fromage*, pp 1-21. Technique et Documentation – Lavoisier, Paris. Citado por Alves, 2003.

CREAMER, L. K., BERRY, G. P., MILLS, O. E. (1977) A study of dissociation of β -casein from the bovine casein micelle at low temperature. *New Zealand Journal of Dairy Technology*, 12, 58-66. Citado por Raynal e Remeuf, 2000.

DAVIES, D. T.; LAW, A. J. R. (1983) Variation in the protein composition of bovine casein micelles and serum casein in relation to micellar size and milk temperature. *Journal of Dairy Research*, 50, 67-75. Citado por Raynal e Remeuf, 2000.

DE LA FUENTE, M. A.; REQUENA, T.; JUAREZ, M. (1997) salt balance in ewe's and goat's milk during storage at chilling and freezing temperatures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 82-88. Citado por Raynal e Remeuf (2000).

DIAS, J. J. M. (1998) *Estudo de alguns parâmetros microbiológicos e tecnológicos do Queijo de Serpa*. Relatório do Trabalho de Fim de Curso de Engenharia Agro-industrial. I.S.A., Lisboa.

DOUSSET, X.; DEMAIMAY, M.; RAVAUD, C.; LEVESQUE, A.; PINET, X. KERGO, Y. (1988) Influence de la temperature de réfrigération du lait sur la protéolyse et l'amertume du lait UHT au cors de son stockage. *Le Lait*, **68** (2), 143-156. Citado por Infante, 1998.

DZUREC, D. J.; ZALI, R. R. (1995) Effect of heating, cooling, storing milk on casein and whey proteins. *Journal of Dairy Science*, **68**, 273-280. Citado por Raynal e Remeuf, 2000.

ECK, A. (1987) *O Queijo*. Volume 1. Titulo original: *Le fromage. Technique et Documentation* – Lavoisier, Paris. Traduzido por Renato Casquilho. Revisão técnica do Eng. Agrônomo Bento Ripado. Coleção Euro-Agro. Publicações Europa-América.

ECK, A., GILLS, J. C. (1997) *Le fromage. De la science à L'assurance qualité*. Technique e Documentation, Paris. 2ª ed.

ENEROTH, A.; CHRISTIANSSON, A.; BRENDEHAUG, J.; MOLIN, G. (1998), Critical contamination sites in the production line of pasteurised milk, with reference to the psychrotrophic spoilage flora. *International Dairy Journal*, v. **8**, p. 829-834. Citado por Pinto *et al.*, 2006.

FOX, P. F. (1981) Heat-induced changes in milk proceeding coagulation. *Journal Dairy Science*, v. **64**, p. 2127-2137. Citado por Pinto *et al.*, 2006.

GONZÁLEZ, J. P. E.; MARTÍNEZ, A. C.; SORIA, A. C.; SÁNCHEZ, R. A.; MARTÍNEZ, C. E. S.; ANGULO, V. M. LÓPEZ, S. A. (1995) Estudio de la calidad de la leche utilizada en queserías industriales inscritas en la denominacion de origen de Queso Manchego *Alimentaria*, **266**: 19-23. Citado por Infante, 1998.

GRIFFITHS, M. W.; PHILLIPS, J. D.; WEST, I. G.; MUIR, D. D. (1988) The effect extend low - temperature storage of raw milk on the quality of pasteurized and UHT milk. *Food Microbiology*, v. **5**, p. 75-87. Citado por Pinto *et al.*, 2006.

GRIPON, J. (1983) Caractérisation de la dégradation des protéines du lait par les bactéries psychrotrophes. Utilisation des techniques électrophorétiques. *La Technique Laitière*, **974**, 31-34. Citado por Infante, 1998.

ICHILCZYK-LEONE, J.; AMRAN, Y.; SHNEID, N.; LENOIR, J. (1981), Refrigeration of milk and its implications in cheesemaking. 1. Effects of refrigeration on the physicochemical and coagulation properties of milk. *Revue Laitière Française*, nº 401, 7, 9, 11, 13-14. Citado por Raynal e Remeuf, 2000.

INFANTE, M. T. M. (1998) *Efeito da refrigeração na qualidade microbiológica do leite para a produção de queijo Serpa*. Dissertação apresentada ao Instituto Superior de Agronomia para a obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, U.T.L.. Lisboa.

IPQ (1983) – NP 469. *Leites. Determinação da matéria gorda (Técnica de Gerber). Processo corrente.*

IPQ (1983) – NP 470. *Leites. Determinação da acidez.*

IPQ (1983) – NP 474. *Leites. Determinação da densidade relativa. Processo corrente.*

IPQ (1991) – NP 475. *Leites. Determinação do teor de proteína bruta. Técnica de Kjeldahl.*

JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA (2004) Regulamento (CE) n.º 853/2004.

KALANTZOPOULOS, G.C. (1993) Cheeses from ewes' and goats' milk. *In: FOX, P. F.* (ed.) (1993) *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. Vol.2. *Major cheese groups*, 2nd ed., pp 507-553. Chapman & Hall, London, UK. Citado por Alves, 2003.

LENOIR, J., SCHNEID, N. (1987) *A Aptidão do leite para a coagulação pelo coalho*. *In: Eck, A.* (1987), *O Queijo*, pp 196. Coleção EuroAgro – Publicações Europa-América.

LENOIR, J.; REMEUF, F. SCHNEID, N. (1997), Le lait de fromagerie – L'aptitude du lait à la coagulation par la pression. *In: ECK e GILLIS* (coord.) (1997) *Le fromage. De la science à l'assurance-qualité*, 3^{ème} ed., pp. 229-256. *Technique et Documentation* – Lavoisier, Paris. Citado por Alves, 2003.

-
- LUQUET, F.M.** (1985) *O Leite. Do úbere á fábrica de lacticínios*. Volume 1 Título original: *Laits et produits laitiers. Vache, brebis, chèvre*. Vol. I – *De la mamelle a la laiterie*. APRIA, Technique et Documentation – Lavoisier, Paris. Traduzido por Franco de Sousa. Colecção Euro-Agro. Publicações Europa-América.
- MADRID, A.** (1993). *Manual de tecnologia quesera*. AMV Ediciones – Mundi-Prensa, Madrid. Citado por Dias, 1998.
- MARTIN, P., OLLIVIER-BOUSQUET, M., GROSCLAUDE, F.** (1999), *Genetic polymorphism of caseins: a tool to investigate casein micelle organization*. International Dairy Journal, 9, 163-171.
- MARTINS, A. P. L.** (1979) *Análises individuais de leite de cabra e técnicas de fabrico de queijo de cabra*. Relatório final de estágio do curso de Engenheiro Agrónomo. Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia. Lisboa.
- MARTINS, A.P.L.** (1989) *O leite de ovelha - produção, utilização e características. Contribuição para o estudo e caracterização do leite de ovelha da região de Azeitão*. NTLD, ENTPA, INIA. Lisboa, 1989. Trabalho apresentado ao INIA para prestação de provas de acesso à categoria de Assistente de Investigação.
- MARTINS, A. P. L.** (1999) *A flor de cardo (Cynara cardunculus L.) como agente coagulante no fabrico de queijo. Caracterização e influência dos processos de conservação na actividade coagulante*. Dissertação apresentada ao Instituto Superior de Agronomia para prestação de provas de Doutoramento em Engenharia Agro-industrial, Lisboa.
- MARTINS, A. P. L.; VASCONCELOS, M. M.** (1993) Alguns aspectos da qualidade do leite e o fabrico de queijos regionais. *Via Láctea*, n.º 2, Jan. 93, 73-79.
- MARTINS, A. P. L.; VASCONCELOS, M. M.** (2001) Queijos tradicionais portugueses. Qualidade e factores de tipicidade. *Via Láctea*, n.º 17, Jan. 01, 16-20.
- MARTINS, A. P. L., VASCONCELOS, M. M.** (2004) *A qualidade do queijo fabricado com leite cru. Efeito dos principais factores tecnológicos*. Núcleo de Tecnologia do Leite e Derivados, Departamento de Tecnologia dos Produtos Agrários, Estação Agronómica Nacional. Lisboa.
-

-
- MARTINS, A. P. L.; BELO, C. C.; PEREIRA, E. A.; VASCONCELOS, M. M.; BELO, A. T.; MARTINS, M. P.; MIMOSO, M. C.; FONTES, A. L.** (2005) *A aptidão tecnológica do leite de ovelha de diferentes raças tendo em vista o fabrico de queijo*. NTLD-DTPA, Estação Agronómica Nacional, Instituto Superior de Agronomia, Estação Zootécnica Nacional.
- MOIOLI, B., PILLA, F., TRIPALDI, C.** (1998), Detection of milk protein genetic polymorphisms in order to improve dairy traits in sheep and goats: a review. *Small Ruminant Research*, 27, 185-195.
- PARK, Y.W.** (2007), Reological characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68, 79-87.
- PARK, Y. W., HAENLEIN, F. W.** (2006) *Handbook of Milk of non-bovine mammals*. Blackwell Publishing, USA.
- PARK, Y.W., JUAREZ, M., RAMSO, M. HAENLEIN, F.W.** (2007), Phyco-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68, 88-113.
- PEIXEIRO, M.R.P.A.** (2005) *Optimização do processo de coagulação do leite de ovelha com extracto de cardo (Cynara Cardunculus L.) e influência nas características do queijo de Azeitão*. Relatório de fim de curso em Engenharia Alimentar. Universidade Técnica de Lisboa. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa.
- PINTO, C. L. O.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D.** (2006) Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrótróficas proteolíticas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, **26(3)**: 645-651.
- PUHAN, Z.** (1989) Influence of cold storage on milk chemical aspects. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 40, 340-363. Citado por Raynal e Remeuf, 2000.
- RAMOS, J.** (2009) *Efeito da refrigeração em leite de ovelha – evolução da flora microbiana e efeito na aptidão tecnológica para queijo*. Dissertação apresentada ao Instituto Superior de Agronomia para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Zootécnica, U.T.L.. Lisboa.

-
- RAYNAL, K., REMEUF, F.** (2000) Effect of storage at 4° C on the physicochemical and renneting properties of milk: a comparison of caprine, ovine and bovine milks. *J. Dairy Research*, 67, 199-207.
- REBELO, A. G.** (1983) *O Queijo. Notas sobre queijos regionais das Beiras*. Coordenação: Eng.º Camilo Silveira Costa. Coleção Agros. Livraria popular Francisco Franco, Lda. Lisboa.
- SANCHEZ, M.** (2004) *Influência da matéria-prima no fabrico de queijo de cabra*. Relatório do Trabalho de fim de curso de Engenharia Alimentar. Universidade Técnica de Lisboa. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa.
- VEGARUD, G.E., DEVOLD, T.G.** (1999) Genetic variants of Norwegian goats milk composition, micellar size and renneting properties. *International Dairy Journal*, 9, 367-368.
- VIEIRA DE SÁ, F.** (1990) *A Cabra*. Nova Coleção Técnica. Clássica Editora. Lisboa.
- VIEIRA DE SÁ, F., BARBOSA, M.** (1990) *O Leite e os Seus Produtos. 5ª Edição*. Nova Coleção Agrária. Clássica Editora. Lisboa.
- YSEBAERT** (2000) *Optigraph – User's manual. Dairy Division*. Citado por Alves, 2003.
- ZULLO, A., BARONE, M.A.** (2005) Protein polymorphisms and coagulation properties of Cilentana goat milk. *Small Ruminant Research*, 58, 223-230.

7.1. Cibergrafia

RIBEIRO, M. T.; CARVALHO, A. C.,

http://agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_97_21720039241.html

Consultado a 08/05/2009.

SILVA, M.C.; SILVA, J.; RAMOS, A.; MELO, R.; OLIVEIRA, J. (2008), *Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa de leite no Estado de Alagoas*. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas.

Consultado em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612008000100032&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt.

SILVEIRA, I.A.; CARVALHO, E.P.; TEIXEIRA, D. (2005), Influência de microrganismos psicotróficos sobre a qualidade do leite refrigerado. *Revista Higiene Alimentar*. Departamento de Ciências dos Alimentos – Universidade Federal de Lavras.

Consultado em <http://www.bichoonline.com.br/artigos/ha0005.htm>.

<http://flordecardo.pt> **Consultado em 26/05/2009.**

<http://www.criareplantar.com.br/pecuaria/caprino/zootecnia.php?tipoConteudo=texto&idConteudo=4>. **Consultado em 15/07/2009**

<http://www.criareplantar.com.br/pecuaria/leite/leite.php> **Consultado em 15/07/2009.**

http://www.gea-farmtechnologies.com/br/pt/products_services/proformance_equipment/default.aspx.
Consultado em 27/07/2009.

www.arcolsa.pt **Consultado em 26/05/2009.**

www.cbmbv.com **Consultado em 25/05/2009**

ANEXOS

Resultados obtidos nos ensaios efectuados com coagulante *standard*

Quadro A. 1 - Parâmetros de aptidão tecnológica do leite em função do tempo de conservação (global)

		pH	R (s)	A ₂₀ (V)	A ₄₀ (V)	AR (V)	A2R (V)
0 dias	Média	6,66 ^{ab}	686 ^a	2,59 ^a	4,04 ^a	3,08 ^a	3,90 ^a
	Desvio Padrão	0,03	53	0,44	1,12	0,85	1,14
	N	9	9	9	9	9	9
1 dia	Média	6,67 ^a	722 ^a	2,52 ^a	4,17 ^a	3,23 ^a	4,07 ^a
	Desvio Padrão	0,03	59	0,40	1,23	0,88	1,24
	N	9	9	9	9	9	8
2 dias	Média	6,63 ^{ab}	717 ^a	2,49 ^a	3,73 ^a	3,14 ^a	3,75 ^a
	Desvio Padrão	0,05	70	0,40	1,37	0,91	1,35
	N	7	9	9	9	9	9
3 dias	Média	6,60 ^{ab}	778 ^a	1,68 ^b	3,56 ^a	3,00 ^a	3,50 ^a
	Desvio Padrão	0,07	220	0,92	1,48	1,59	2,07
	N	6	6	6	6	6	6
6 dias	Média	6,60 ^b	715 ^a	2,74 ^a	4,25 ^a	3,35 ^a	4,24 ^a
	Desvio Padrão	0,05	213	0,48	1,42	0,97	1,40
	N	7	7	7	6	7	7

Nota: em cada coluna, letras diferentes indicam diferenças significativas (P<0,05)

Quadro A. 2 - Parâmetros de aptidão tecnológica do leite em função do tempo de conservação (Produtor B)

		pH	R (s)	A ₂₀ (V)	A ₄₀ (V)	AR (V)	A2R (V)
0 dias	Média	6,65 ^a	639 ^a	2,20 ^a	3,07 ^a	2,35 ^a	2,93 ^a
	Desvio Padrão	0,02	25	0,12	0,55	0,19	0,43
	N	4	4	4	4	4	4
1 dia	Média	6,65 ^a	671 ^a	2,15 ^a	3,02 ^a	2,39 ^a	2,89 ^a
	Desvio Padrão	0,02	32	0,13	0,45	0,10	0,32
	N	4	4	4	4	4	4
2 dias	Média	6,64 ^a	670 ^a	2,11 ^a	2,49 ^a	2,32 ^a	2,55 ^a
	Desvio Padrão	0,03	47	0,11	0,30	0,17	0,25
	N	4	4	4	4	4	4
3 dias	Média	6,58 ^a	718 ^a	1,50 ^b	2,42 ^a	2,05 ^a	2,19 ^a
	Desvio Padrão	0,08	172	0,69	0,68	1,06	1,13
	N	3	3	3	3	3	3
6 dias	Média	6,60 ^a	694 ^a	2,26 ^a	3,22 ^a	2,50 ^a	3,10 ^a
	Desvio Padrão	0,04	31	0,08	0,05	0,12	0,12
	N	3	3	3	3	3	3

Nota: em cada coluna, letras diferentes indicam diferenças significativas (P<0,05)

Quadro A. 3 - Parâmetros de aptidão tecnológica do leite em função do tempo de conservação (Produtor V)

		pH	R (s)	A ₂₀ (V)	A ₄₀ (V)	AR (V)	A2R (V)
0 dias	Média	6,66 ^a	723 ^a	2,85 ^a	4,82 ^a	3,66 ^a	4,68 ^a
	Desvio Padrão	0,03	35	0,37	0,75	0,68	0,86
	N	5	5	5	5	5	5
1 dia	Média	6,68 ^a	763 ^a	2,82 ^a	5,10 ^a	3,90 ^a	5,01 ^a
	Desvio Padrão	0,02	38	0,26	0,66	0,53	0,69
	N	5	5	5	5	5	5
2 dias	Média	6,62 ^a	754 ^a	2,80 ^a	4,71 ^a	3,80 ^a	4,71 ^a
	Desvio Padrão	0,07	64	0,22	0,95	0,65	1,01
	N	4	5	5	5	5	5
3 dias	Média	6,62 ^a	838 ^a	1,87 ^b	4,69 ^a	3,94 ^a	4,80 ^a
	Desvio Padrão	0,07	284	1,23	1,06	1,58	2,07
	N	3	3	3	3	3	3
6 dias	Média	6,60 ^a	730 ^a	3,10 ^a	4,77 ^a	3,99 ^a	4,82 ^a
	Desvio Padrão	0,06	46	0,24	1,51	0,78	1,40
	N	4	4	4	4	4	4

Nota: em cada coluna, letras diferentes indicam diferenças significativas (P<0,05)